

JP04/4385

PCT/JP 2004/004385

日本国特許庁
JAPAN PATENT OFFICE

26.3.2004

別紙添付の書類に記載されている事項は下記の出願書類に記載されている事項と同一であることを証明する。

This is to certify that the annexed is a true copy of the following application as filed with this Office.

出願年月日 2003年 4月30日
Date of Application:

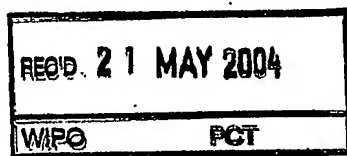
出願番号 特願2003-125681
Application Number:
[ST. 10/C]: [JP 2003-125681]

出願人 株式会社トランスサイエンス
Applicant(s):

PRIORITY
DOCUMENT

SUBMITTED OR TRANSMITTED IN
COMPLIANCE WITH RULE 17.1 (a) OR (b)

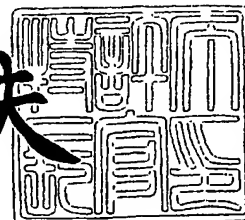
BEST AVAILABLE COPY



2004年 4月30日

特許庁長官
Commissioner,
Japan Patent Office

今井康夫



出証番号 出証特2004-3037350

【書類名】 特許願
【整理番号】 J103519094
【提出日】 平成15年 4月30日
【あて先】 特許庁長官 殿
【国際特許分類】 C04B 24/14
【発明者】

【住所又は居所】 大阪府豊中市新千里北町 2 丁目 9 番 3 号

【氏名】 遠山 正彌

【発明者】

【住所又は居所】 大阪府箕面市小野原東 6 丁目 2 5 - 2 - 3 0 3

【氏名】 山下 俊英

【特許出願人】

【識別番号】 302044546

【氏名又は名称】 株式会社トランスサイエンス

【代理人】

【識別番号】 100078282

【弁理士】

【氏名又は名称】 山本 秀策

【選任した代理人】

【識別番号】 100062409

【弁理士】

【氏名又は名称】 安村 高明

【選任した代理人】

【識別番号】 100113413

【弁理士】

【氏名又は名称】 森下 夏樹

【先の出願に基づく優先権主張】

【出願番号】 特願2003- 92923

【出願日】 平成15年 3月28日

【手数料の表示】

【予納台帳番号】 001878

【納付金額】 21,000円

【提出物件の目録】

【物件名】 明細書 1

【物件名】 図面 1

【物件名】 要約書 1

【包括委任状番号】 0210954

【プルーフの要否】 要

【書類名】 明細書

【発明の名称】 神経再生のための組成物および方法

【特許請求の範囲】

【請求項1】 神経を再生するための方法であって、p 75シグナル伝達経路を阻害する工程を含む、方法。

【請求項2】 前記p 75シグナル伝達経路は、神経再生が所望される部位における神経細胞のものである、請求項1に記載の方法。

【請求項3】 前記p 75シグナル伝達経路の阻害は、p 75シグナル伝達経路における伝達因子もしくはその改変体もしくはフラグメント、またはp 75シグナル伝達経路における伝達因子に対して特異的に相互作用する因子を再生に有効な量で提供することによる、請求項1に記載の方法。

【請求項4】 前記p 75シグナル伝達経路における伝達因子は、MAG、GT1b、p 75、Rho GDI、Rho、p 21およびRhoキナーゼからなる群より選択される少なくとも1つの伝達因子を含む、請求項3に記載の方法。

【請求項5】 前記p 75シグナル伝達経路の阻害は、MAGとGT1bとの相互作用の阻害、GT1bとp 75との相互作用の阻害、p 75とRhoとの相互作用の阻害、p 75とRho GDIとの相互作用の阻害、RhoとRho GDIとの相互作用の維持または強化、Rho GDPからRho GTPへの変換阻害、RhoとRhoキナーゼとの相互作用の阻害およびRhoキナーゼの活性阻害からなる群より選択される、請求項1に記載の方法。

【請求項6】 前記p 75シグナル伝達経路の阻害は、MAGとGT1bとの相互作用を抑制または消失する因子、GT1bとp 75との相互作用を抑制または消失する因子、p 75とRho GDIとの相互作用を抑制または消失する因子、p 75とRhoとの相互作用を抑制または消失する因子、RhoとRho GDIとの相互作用を維持または強化する因子、Rho GDPからRho GTPへの変換を阻害する因子、RhoとRhoキナーゼとの相互作用を阻害する因子、およびRhoキナーゼの活性を阻害する因子からなる群より選択される少なくとも1つの因子を再生に有効な量で提供することによる、請求項1に記載の方

法。

【請求項 7】 前記神経の再生は、インビボまたはインビトロで行われる、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 8】 前記神経は、脊髄損傷、脳血管障害または脳外傷を含む状態にある、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 9】 前記 p 7 5 シグナル伝達経路を阻害する工程は、再生に有効な量の、P e p 5 ポリペプチド、P e p 5 ポリペプチドをコードする核酸分子、p 7 5 ポリペプチドに対して特異的に相互作用する因子、p 7 5 ポリペプチドをコードする核酸分子に対して特異的に相互作用する因子、p 7 5 細胞外ドメインポリペプチド、p 7 5 細胞外ドメインポリペプチドをコードする核酸分子、R h o G D I ポリペプチドに対して特異的に相互作用する因子、R h o G D I ポリペプチドをコードする核酸分子に対して特異的に相互作用する因子、R h o G D I ポリペプチド、R h o G D I ポリペプチドをコードする核酸分子、M A G ポリペプチドに対して特異的に相互作用する因子、M A G ポリペプチドをコードする核酸分子に対して特異的に相互作用する因子、p 2 1 ポリペプチド、p 2 1 をコードする核酸分子、R h o ポリペプチドに対して特異的に相互作用する因子、R h o ポリペプチドをコードする核酸分子に対して特異的に相互作用する因子、R h o キナーゼに対して特異的に相互作用する因子および R h o キナーゼをコードする核酸分子に対して特異的に相互作用する因子ならびにその改変体およびフラグメントからなる群より選択される少なくとも 1 つの分子を含む組成物を該神経に与える工程、
.....
を包含する、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 10】 前記因子は、P T D ドメインに結合する、請求項 4 に記載の方法。

【請求項 11】 神経疾患、神経障害および／または神経の状態を、処置、予防、診断または予後する方法であって、該処置、予防、診断または予後を必要とするかまたはそのことが予想される被検体において p 7 5 シグナル伝達経路を調節する工程を包含する、方法。

【請求項 12】 前記 p 7 5 シグナル伝達経路を調節する工程は、p 7 5 シ

グナル伝達経路における伝達因子もしくはその改変体もしくはフラグメント、または p 7 5 シグナル伝達経路における伝達因子に対して特異的に相互作用する因子を再生に有効な量で、前記処置、予防、診断または予後を必要とするかまたはそのことが予想される被検体に投与する工程を包含する、請求項 1 1 に記載の方法。

【請求項 1 3】 前記 p 7 5 シグナル伝達経路における伝達因子は、MAG、G T 1 b、p 7 5、R h o G D I、R h o、p 2 1 および R h o キナーゼからなる群より選択される少なくとも 1 つの伝達因子を含む、請求項 1 1 に記載の方法。

【請求項 1 4】 前記 p 7 5 シグナル伝達経路の調節は、前記処置、予防、診断または予後を必要とするかまたはそのことが予想される被検体における、MAG と G T 1 b との相互作用の阻害、G T 1 b と p 7 5 との相互作用の阻害、p 7 5 と R h o との相互作用の阻害、p 7 5 と R h o G D I との相互作用の阻害、R h o と R h o G D I との相互作用の維持または強化、R h o G D P から R h o G T P への変換阻害、R h o と R h o キナーゼとの相互作用の阻害および R h o キナーゼの活性阻害からなる群より選択される調節を少なくとも 1 つ包含する、請求項 1 1 に記載の方法。

【請求項 1 5】 前記 p 7 5 シグナル伝達経路の調節は、MAG と G T 1 b との相互作用を抑制または消失する因子、G T 1 b と p 7 5 との相互作用を抑制または消失する因子、p 7 5 と R h o G D I との相互作用を抑制または消失する因子、p 7 5 と R h o との相互作用を抑制または消失する因子、R h o と R h o G D I との相互作用を維持または強化する因子、R h o G D P から R h o G T P への変換を阻害する因子、R h o と R h o キナーゼとの相互作用を阻害する因子、および R h o キナーゼの活性を阻害する因子からなる群より選択される少なくとも 1 つの因子を再生に有効な量で、前記処置、予防、診断または予後を必要とするかまたはそのことが予想される被検体に投与する工程を包含する、請求項 1 1 に記載の方法。

【請求項 1 6】 前記神経の再生は、インビボまたはインビトロで行われる、請求項 1 1 に記載の方法。

【請求項 17】 前記神経は、脊髄損傷、脳血管障害または脳外傷を含む状態にある、請求項 11 に記載の方法。

【請求項 18】 前記 p 75 シグナル伝達経路を調節する工程は、診断、予防、処置または予後に有効な量の P e p 5 ポリペプチド、P e p 5 ポリペプチドをコードする核酸分子、p 75 ポリペプチドに対して特異的に相互作用する因子、p 75 ポリペプチドをコードする核酸分子に対して特異的に相互作用する因子、p 75 細胞外ドメインポリペプチド、p 75 細胞外ドメインポリペプチドをコードする核酸分子、R h o G D I ポリペプチドに対して特異的に相互作用する因子、R h o G D I ポリペプチドをコードする核酸分子に対して特異的に相互作用する因子、R h o G D I ポリペプチド、R h o G D I ポリペプチドをコードする核酸分子、M A G ポリペプチドに対して特異的に相互作用する因子、M A G ポリペプチドをコードする核酸分子に対して特異的に相互作用する因子、p 21 ポリペプチド、p 21 をコードする核酸分子、R h o ポリペプチドに対して特異的に相互作用する因子、R h o ポリペプチドをコードする核酸分子に対して特異的に相互作用する因子、R h o キナーゼに対して特異的に相互作用する因子および R h o キナーゼをコードする核酸分子に対して特異的に相互作用する因子ならびにその改変体およびフラグメントからなる群より選択される少なくとも 1 つの分子を含む組成物を該神経に与える工程、を包含する、請求項 11 に記載の方法。

【請求項 19】 さらに、1 以上の薬剤を提供する工程を包含する、請求項 11 に記載の方法。

【請求項 20】 前記因子は、P T D ドメインに結合する、請求項 13 に記載の方法。

【請求項 21】 p 75 シグナル伝達経路を阻害する因子を含む、神経を再生するための組成物。

【請求項 22】 前記 p 75 シグナル伝達経路を阻害する因子は、神経再生が所望される部位における神経細胞に送達されるのに適切な形態である、請求項 21 に記載の組成物。

【請求項 23】 前記 p 75 シグナル伝達経路を阻害する因子は、p 75 シ

グナル伝達経路における伝達因子もしくはその改変体もしくはフラグメント、または p 7 5 シグナル伝達経路における伝達因子に対して特異的に相互作用する因子を含む、請求項 2 1 に記載の組成物。

【請求項 2 4】 前記 p 7 5 シグナル伝達経路における伝達因子は、MAG、G T 1 b、p 7 5、R h o G D I、R h o、p 2 1 および R h o キナーゼからなる群より選択される少なくとも 1 つの伝達因子を含む、請求項 2 3 に記載の組成物。

【請求項 2 5】 前記 p 7 5 シグナル伝達経路を阻害する因子は、MAG と G T 1 b との相互作用の阻害、G T 1 b と p 7 5 との相互作用の阻害、p 7 5 と R h o との相互作用の阻害、p 7 5 と R h o G D I との相互作用の阻害、R h o と R h o G D I との相互作用の維持または強化、R h o G D P から R h o G T P への変換阻害、R h o と R h o キナーゼとの相互作用の阻害および R h o キナーゼの活性阻害からなる群より選択される少なくとも 1 つの作用を有する、請求項 2 1 に記載の組成物。

【請求項 2 6】 前記 p 7 5 シグナル伝達経路を阻害する因子は、MAG と G T 1 b との相互作用を抑制または消失する因子、G T 1 b と p 7 5 との相互作用を抑制または消失する因子、p 7 5 と R h o G D I との相互作用を抑制または消失する因子、p 7 5 と R h o との相互作用を抑制または消失する因子、R h o と R h o G D I との相互作用を維持または強化する因子、R h o G D P から R h o G T P への変換を阻害する因子、R h o と R h o キナーゼとの相互作用を阻害する因子、および R h o キナーゼの活性を阻害する因子からなる群より選択される少なくとも 1 つの因子を含み、該前記 p 7 5 シグナル伝達経路を阻害する因子は、再生に有効な量で存在する、請求項 2 1 に記載の組成物。

【請求項 2 7】 インビボまたはインビトロでの投与形態に適切である、請求項 2 1 に記載の組成物。

【請求項 2 8】 前記神経は、脊髄損傷、脳血管障害または脳外傷を含む状態にある、請求項 2 1 に記載の組成物。

【請求項 2 9】 前記 p 7 5 シグナル伝達経路を阻害する因子は、P e p 5 ポリペプチド、P e p 5 ポリペプチドをコードする核酸分子、p 7 5 ポリペプチ

ドに対して特異的に相互作用する因子、p 7 5 ポリペプチドをコードする核酸分子に対して特異的に相互作用する因子、p 7 5 細胞外ドメインポリペプチド、p 7 5 細胞外ドメインポリペプチドをコードする核酸分子、R h o G D I ポリペプチドに対して特異的に相互作用する因子、R h o G D I ポリペプチドをコードする核酸分子に対して特異的に相互作用する因子、R h o G D I ポリペプチド、R h o G D I ポリペプチドをコードする核酸分子、M A G ポリペプチドに対して特異的に相互作用する因子、M A G ポリペプチドをコードする核酸分子に対して特異的に相互作用する因子、p 2 1 ポリペプチド、p 2 1 をコードする核酸分子、R h o ポリペプチドに対して特異的に相互作用する因子、R h o ポリペプチドをコードする核酸分子に対して特異的に相互作用する因子、R h o キナーゼに対して特異的に相互作用する因子およびR h o キナーゼをコードする核酸分子に対して特異的に相互作用する因子ならびにその改変体およびフラグメントからなる群より選択される少なくとも1つの分子を含む、請求項 2 1 に記載の組成物。

【請求項 3 0】 前記因子は、P T D ドメインに結合する、請求項 2 1 に記載の組成物。

【請求項 3 1】 神経疾患、神経障害および／または神経の状態を、処置、予防、診断または予後するための組成物であって、p 7 5 シグナル伝達経路を調節する因子を含む、組成物。

【請求項 3 2】 前記 p 7 5 シグナル伝達経路を調節する因子は、p 7 5 シグナル伝達経路における伝達因子もしくはその改変体もしくはフラグメント、または p 7 5 シグナル伝達経路における伝達因子に対して特異的に相互作用する因子を含む、請求項 3 1 に記載の組成物。

【請求項 3 3】 前記 p 7 5 シグナル伝達経路における伝達因子は、M A G、G T 1 b、p 7 5、R h o G D I、R h o、p 2 1 およびR h o キナーゼからなる群より選択される少なくとも1つの伝達因子を含む、請求項 3 1 に記載の組成物。

【請求項 3 4】 前記 p 7 5 シグナル伝達経路の調節は、M A G と G T 1 b との相互作用の阻害、G T 1 b と p 7 5 との相互作用の阻害、p 7 5 と R h o と

の相互作用の阻害、p 75 と R h o G D I との相互作用の阻害、R h o と R h o G D I との相互作用の維持または強化、R h o G D P から R h o G T P への変換阻害、R h o と R h o キナーゼとの相互作用の阻害および R h o キナーゼの活性阻害からなる群より選択される、請求項 3 1 に記載の組成物。

【請求項 3 5】 前記 p 75 シグナル伝達経路を調節する因子は、M A G と G T 1 b との相互作用を抑制または消失する因子、G T 1 b と p 75 との相互作用を抑制または消失する因子、p 75 と R h o G D I との相互作用を抑制または消失する因子、p 75 と R h o との相互作用を抑制または消失する因子、R h o と R h o G D I との相互作用を維持または強化する因子、R h o G D P から R h o G T P への変換を阻害する因子、R h o と R h o キナーゼとの相互作用を阻害する因子、および R h o キナーゼの活性を阻害する因子からなる群より選択される少なくとも 1 つの因子を含む、請求項 3 1 に記載の組成物。

【請求項 3 6】 経口または非経口での投与に適した形態である、請求項 3 1 に記載の組成物。

【請求項 3 7】 前記神経は、脊髄損傷、脳血管障害または脳外傷を含む状態にある、請求項 3 1 に記載の組成物。

【請求項 3 8】 前記 p 75 シグナル伝達経路を調節する因子は、P e p 5 ポリペプチド、P e p 5 ポリペプチドをコードする核酸分子、p 75 ポリペプチドに対して特異的に相互作用する因子、p 75 ポリペプチドをコードする核酸分子に対して特異的に相互作用する因子、p 75 細胞外ドメインポリペプチド、p 75 細胞外ドメインポリペプチドをコードする核酸分子、R h o G D I ポリペプチドに対して特異的に相互作用する因子、R h o G D I ポリペプチドをコードする核酸分子に対して特異的に相互作用する因子、R h o G D I ポリペプチド、R h o G D I ポリペプチドをコードする核酸分子、M A G ポリペプチドに対して特異的に相互作用する因子、M A G ポリペプチドをコードする核酸分子に対して特異的に相互作用する因子、p 2 1 ポリペプチド、p 2 1 をコードする核酸分子、R h o ポリペプチドに対して特異的に相互作用する因子、R h o ポリペプチドをコードする核酸分子に対して特異的に相互作用する因子、R h o キナーゼに対して特異的に相互作用する因子および R h o キナーゼをコードする核酸分

子に対して特異的に相互作用する因子ならびにその改変体およびフラグメントからなる群より選択される少なくとも1つの分子を含む、請求項31に記載の組成物。

【請求項39】 さらに、1以上の薬剤を含む、請求項31に記載の組成物

。

【請求項40】 前記因子は、PTDドメインに結合する、請求項31に記載の組成物。

【請求項41】 神経を再生するための組成物であって、Pep5ポリペプチドを含む、組成物。

【請求項42】 前記Pep5ポリペプチドは、

(a) 配列番号1に記載の核酸配列もしくはそのフラグメントによってコードされる、ポリペプチド；

(b) 配列番号2に記載のアミノ酸配列もしくはそのフラグメントを有する、ポリペプチド；

(c) 配列番号2に記載のアミノ酸配列において、1以上のアミノ酸が、置換、付加および欠失からなる群より選択される少なくとも1つの変異を有する改変体ポリペプチドであって、生物学的活性を有する、改変体ポリペプチド；または

(d) (a) ~ (c) のいずれか1つのポリペプチドのアミノ酸配列に対する同一性が少なくとも70%であるアミノ酸配列からなり、かつ、生物学的活性を有する、ポリペプチド、

を含む、請求項41に記載の組成物。

【請求項43】 前記Pep5ポリペプチドは、配列番号2のアミノ酸配列の全範囲を含む、請求項41に記載の組成物。

【請求項44】 前記神経は、脊髄損傷、脳血管障害または脳外傷を含む状態にある、請求項41に記載の組成物。

【請求項45】 前記Pep5ポリペプチドは、さらに、PTDドメインを含む、請求項41に記載の組成物。

【請求項46】 神経を再生するための組成物であって、Pep5ポリペ

チドをコードする核酸分子を含む、組成物。

【請求項 47】 前記 P e p 5 ポリペプチドをコードする核酸分子は、

(a) 配列番号 1 に記載の塩基配列またはそのフラグメント配列を有する、ポリヌクレオチド；

(b) 配列番号 2 に記載のアミノ酸配列またはそのフラグメントをコードする、ポリヌクレオチド、

(c) 配列番号 2 に記載のアミノ酸配列において、1 以上のアミノ酸が、置換、付加および欠失からなる群より選択される少なくとも 1 つの変異を有する改変体ポリペプチドであって、生物学的活性を有する改変体ポリペプチドをコードする、ポリヌクレオチド；；

(d) (a) ~ (c) のいずれか 1 つのポリヌクレオチドにストリンジェントな条件下でハイブリダイズし、かつ生物学的活性を有するポリペプチドをコードするポリヌクレオチド；または

(e) (a) ~ (c) のいずれか 1 つのポリヌクレオチドまたはその相補配列に対する同一性が少なくとも 70 % である塩基配列からなり、かつ、生物学的活性を有するポリペプチドをコードするポリヌクレオチド、を含む、請求項 46 に記載の組成物。

【請求項 48】 前記 P e p 5 ポリペプチドをコードする核酸分子は、配列番号 1 の核酸配列におけるヌクレオチド配列の全範囲を含む、請求項 46 に記載の組成物。

【請求項 49】 前記神経は、脊髄損傷、脳血管障害または脳外傷を含む状態にある、請求項 46 に記載の組成物。

【請求項 50】 前記 P e p 5 ポリペプチドをコードする核酸分子は、P T D ドメインをコードする配列を含む、請求項 41 に記載の組成物。

【請求項 51】 神経を再生するための組成物であって、p 75 ポリペプチドに対して特異的に相互作用する因子を含む、組成物。

【請求項 52】 前記 p 75 ポリペプチドは、

(a) 配列番号 3 または 16 に記載の核酸配列のヌクレオチドもしくはそのフラグメントによってコードされる、ポリペプチド；

(b) 配列番号 4 または 17 に記載のアミノ酸配列のアミノ酸もしくはそのフラグメントを有する、ポリペプチド;

(c) 配列番号 4 または 17 に記載のアミノ酸配列のアミノ酸において、1 以上のアミノ酸が、置換、付加および欠失からなる群より選択される少なくとも 1 つの変異を有する改変体ポリペプチドであって、生物学的活性を有する、改変体ポリペプチド

(d) 配列番号 3 または 16 に記載の塩基配列のヌクレオチドのスプライス改変体もしくは対立遺伝子改変体によってコードされる、ポリペプチド;

(e) 配列番号 4 または 17 に記載のアミノ酸配列のアミノ酸を有するポリペプチドの、種相同体ポリペプチド; または

(f) (a) ~ (e) のいずれか 1 つのポリペプチドのアミノ酸配列に対する同一性が少なくとも 70% であるアミノ酸配列からなり、かつ、生物学的活性を有する、ポリペプチド、
を含む、請求項 51 に記載の組成物。

【請求項 53】 前記 p 75 ポリペプチドは、配列番号 4 または 17 のアミノ酸配列のうち、それぞれ 273 位~427 位または 274 位~425 位の範囲を含む、請求項 51 に記載の組成物。

【請求項 54】 前記神経は、脊髄損傷、脳血管障害または脳外傷を含む状態にある、請求項 51 に記載の組成物。

【請求項 55】 前記因子は、抗体を含む、請求項 51 に記載の組成物。

【請求項 56】 神経を再生するための組成物であって、p 75 ポリペプチドをコードする核酸分子に対して特異的に相互作用する因子を含む、組成物。

【請求項 57】 前記 p 75 ポリペプチドをコードする核酸分子は、

(a) 配列番号 3 または 16 に記載の塩基配列のヌクレオチドまたはそのフラグメント配列を有する、ポリヌクレオチド;

(b) 配列番号 4 または 17 に記載のアミノ酸配列のアミノ酸またはそのフラグメントをコードする、ポリヌクレオチド、

(c) 配列番号 4 または 17 に記載のアミノ酸配列のアミノ酸において、1 以上のアミノ酸が、置換、付加および欠失からなる群より選択される少なくとも

も 1 つの変異を有する改変体ポリペプチドであって、生物学的活性を有する改変体ポリペプチドをコードする、ポリヌクレオチド；

(d) 配列番号 3 または 16 に記載の塩基配列のヌクレオチドのスプライス変異体または対立遺伝子変異体である、ポリヌクレオチド；

(e) 配列番号 4 または 17 に記載のアミノ酸配列のアミノ酸からなるポリペプチドの種相同体をコードする、ポリヌクレオチド；

(f) (a) ~ (e) のいずれか 1 つのポリヌクレオチドにストリンジェントな条件下でハイブリダイズし、かつ生物学的活性を有するポリペプチドをコードするポリヌクレオチド；または

(g) (a) ~ (e) のいずれか 1 つのポリヌクレオチドまたはその相補配列に対する同一性が少なくとも 70 % である塩基配列からなり、かつ、生物学的活性を有するポリペプチドをコードするポリヌクレオチド、からなる群より選択される、ポリヌクレオチド、を含む、請求項 56 に記載の組成物。

【請求項 58】 前記 p 75 ポリペプチドをコードする核酸分子は、配列番号 3 または 16 の核酸配列において、それぞれヌクレオチド 1110 位 ~ 1283 位または 1113 位 ~ 1277 位の範囲を含む、請求項 56 に記載の組成物。

【請求項 59】 前記神経は、脊髄損傷、脳血管障害または脳外傷を含む状態にある、請求項 56 に記載の組成物。

【請求項 60】 前記因子は、p 75 ポリペプチドをコードする核酸分子のアンチセンスまたは RNA i である、請求項 56 に記載の組成物。

【請求項 61】 神経を再生するための組成物であって、p 75 細胞外ドメインポリペプチドを含む、組成物。

【請求項 62】 前記 p 75 細胞外ドメインは、

(a) 配列番号 3 または 16 に記載の核酸配列の、それぞれヌクレオチド 198 位 ~ 863 位または 201 位 ~ 866 位もしくはそのフラグメントによってコードされる、ポリペプチド；

(b) 配列番号 4 または 17 に記載のアミノ酸配列の、それぞれアミノ酸 29 位 ~ 250 位または 30 位 ~ 251 位もしくはそのフラグメントを有する、

ポリペプチド；

(c) 配列番号 4 または 17 に記載のアミノ酸配列、それぞれアミノ酸 29 位～250 位または 30 位～251 位において、1 以上のアミノ酸が、置換、付加および欠失からなる群より選択される少なくとも 1 つの変異を有する改変体ポリペプチドであって、生物学的活性を有する、改変体ポリペプチド

(d) 配列番号 3 または 16 に記載の塩基配列の、それぞれヌクレオチド 198 位～863 位または 201 位～866 位のスプライス改変体もしくは対立遺伝子改変体の配列によってコードされる、ポリペプチド；

(e) 配列番号 4 または 17 に記載のアミノ酸配列の、それぞれアミノ酸 29 位～250 位または 30 位～251 位を有するポリペプチドの、種相同体ポリペプチド；または

(f) (a) ～ (e) のいずれか 1 つのポリペプチドのアミノ酸配列に対する同一性が少なくとも 70 % であるアミノ酸配列からなり、かつ、生物学的活性を有する、ポリペプチド、
を含む、請求項 61 に記載の組成物。

【請求項 63】 前記 p 75 細胞外ドメインポリペプチドは、配列番号 4 または 17 のアミノ酸配列において、それぞれアミノ酸 29 位～250 位または 30 位～251 位の範囲を含む、請求項 61 に記載の組成物。

【請求項 64】 前記神経は、脊髄損傷、脳血管障害または脳外傷を含む状態にある、請求項 61 に記載の組成物。

【請求項 65】 前記 p 75 細胞外ドメインポリペプチドは、可溶性である、請求項 61 に記載の組成物。

【請求項 66】 神経を再生するための組成物であって、p 75 細胞外ドメインポリペプチドをコードする核酸分子を含む、組成物。

【請求項 67】 前記 p 75 細胞外ドメインポリペプチドをコードする核酸分子は、

(a) 配列番号 3 または 16 に記載の塩基配列の、それぞれヌクレオチド 198 位～863 位または 201 位～866 位またはそのフラグメント配列を有する、ポリヌクレオチド；

(b) 配列番号 4 または 17 に記載のアミノ酸配列の、それぞれアミノ酸 29 位～250 位または 30 位～251 位またはそのフラグメントをコードする、ポリヌクレオチド、

(c) 配列番号 4 または 17 に記載のアミノ酸配列の、それぞれアミノ酸 29 位～250 位または 30 位～251 位において、1 以上のアミノ酸が、置換、付加および欠失からなる群より選択される少なくとも 1 つの変異を有する改変体ポリペプチドであって、生物学的活性を有する改変体ポリペプチドをコードする、ポリヌクレオチド；

(d) 配列番号 3 または 16 に記載の塩基配列の、それぞれヌクレオチド 198 位～863 位または 201 位～866 位のスプライス変異体または対立遺伝子変異体である、ポリヌクレオチド；

(e) 配列番号 4 または 17 に記載のアミノ酸配列、それぞれアミノ酸 29 位～250 位または 30 位～251 位からなるポリペプチドの種相同体をコードする、ポリヌクレオチド；

(f) (a) ～ (e) のいずれか 1 つのポリヌクレオチドにストリンジェントな条件下でハイブリダイズし、かつ生物学的活性を有するポリペプチドをコードするポリヌクレオチド；または

(g) (a) ～ (e) のいずれか 1 つのポリヌクレオチドまたはその相補配列に対する同一性が少なくとも 70 % である塩基配列からなり、かつ、生物学的活性を有するポリペプチドをコードするポリヌクレオチド、からなる群より選択される、ポリヌクレオチド、を含む、請求項 66 に記載の組成物。

【請求項 68】 前記 p 75 細胞外ドメインポリペプチドをコードする核酸分子は、配列番号 3 または 16 の核酸配列において、それぞれヌクレオチド 198 位～863 位または 201 位～866 位の範囲を含む、請求項 66 に記載の組成物。

【請求項 69】 前記神経は、脊髄損傷、脳血管障害または脳外傷を含む状態にある、請求項 66 に記載の組成物。

【請求項 70】 前記 p 75 細胞外ドメインポリペプチドは、可溶性である

、請求項 66 に記載の組成物。

【請求項 71】 神経を再生するための組成物であって、Rho GDI ポリペプチドに対して特異的に相互作用する因子を含む、組成物。

【請求項 72】 前記 Rho GDI ポリペプチドは、

(a) 配列番号 5 に記載の核酸配列のヌクレオチドもしくはそのフラグメントによってコードされる、ポリペプチド；

(b) 配列番号 6 に記載のアミノ酸配列のアミノ酸もしくはそのフラグメントを有する、ポリペプチド；

(c) 配列番号 6 に記載のアミノ酸配列のアミノ酸において、1 以上のアミノ酸が、置換、付加および欠失からなる群より選択される少なくとも 1 つの変異を有する改変体ポリペプチドであって、生物学的活性を有する、改変体ポリペプチド

(d) 配列番号 5 に記載の塩基配列のヌクレオチドのスプライス改変体もしくは対立遺伝子改変体によってコードされる、ポリペプチド；

(e) 配列番号 6 に記載のアミノ酸配列のアミノ酸を有するポリペプチドの、種相同体ポリペプチド；または

(f) (a) ~ (e) のいずれか 1 つのポリペプチドのアミノ酸配列に対する同一性が少なくとも 70 % であるアミノ酸配列からなり、かつ、生物学的活性を有する、ポリペプチド、

を含む、請求項 71 に記載の組成物。

【請求項 73】 前記 Rho GDI ポリペプチドは、配列番号 6 のアミノ酸配列の全範囲を含む、請求項 71 に記載の組成物。

【請求項 74】 前記神経は、脊髄損傷、脳血管障害または脳外傷を含む状態にある、請求項 71 に記載の組成物。

【請求項 75】 前記因子は、抗体を含む、請求項 71 に記載の組成物。

【請求項 76】 神経を再生するための組成物であって、Rho GDI ポリペプチドをコードする核酸分子に対して特異的に相互作用する因子を含む、組成物。

【請求項 77】 前記 Rho GDI ポリペプチドをコードする核酸分子は

(a) 配列番号 5 に記載の塩基配列のヌクレオチドまたはそのフラグメント配列を有する、ポリヌクレオチド;

(b) 配列番号 6 に記載のアミノ酸配列のアミノ酸またはそのフラグメントをコードする、ポリヌクレオチド、

(c) 配列番号 6 に記載のアミノ酸配列のアミノ酸において、1 以上のアミノ酸が、置換、付加および欠失からなる群より選択される少なくとも 1 つの変異を有する改変体ポリペプチドであって、生物学的活性を有する改変体ポリペプチドをコードする、ポリヌクレオチド;

(d) 配列番号 5 に記載の塩基配列のヌクレオチドのスプライス変異体または対立遺伝子変異体である、ポリヌクレオチド;

(e) 配列番号 6 に記載のアミノ酸配列のアミノ酸からなるポリペプチドの種相同体をコードする、ポリヌクレオチド;

(f) (a) ~ (e) のいずれか 1 つのポリヌクレオチドにストリンジェントな条件下でハイブリダイズし、かつ生物学的活性を有するポリペプチドをコードするポリヌクレオチド; または

(g) (a) ~ (e) のいずれか 1 つのポリヌクレオチドまたはその相補配列に対する同一性が少なくとも 70 % である塩基配列からなり、かつ、生物学的活性を有するポリペプチドをコードするポリヌクレオチド、からなる群より選択される、ポリヌクレオチド、を含む、請求項 76 に記載の組成物。

【請求項 78】 前記 Rho GDI は、配列番号 5 の核酸配列の全範囲を含む、請求項 76 に記載の組成物。

【請求項 79】 前記神経は、脊髄損傷、脳血管障害または脳外傷を含む状態にある、請求項 76 に記載の組成物。

【請求項 80】 前記因子は、アンチセンス分子または RNAi を含む、請求項 76 に記載の組成物。

【請求項 81】 神経を再生するための組成物であって、MAG ポリペプチドに対して特異的に相互作用する因子を含む、組成物。

【請求項 82】 前記MAGポリペプチドは、

(a) 配列番号7に記載の核酸配列もしくはそのフラグメントによってコードされる、ポリペプチド；

(b) 配列番号8に記載のアミノ酸配列もしくはそのフラグメントを有する、ポリペプチド；

(c) 配列番号8に記載のアミノ酸配列において、1以上のアミノ酸が、置換、付加および欠失からなる群より選択される少なくとも1つの変異を有する改変体ポリペプチドであって、生物学的活性を有する、改変体ポリペプチド

(d) 配列番号7に記載の塩基配列のスプライス改変体もしくは対立遺伝子改変体によってコードされる、ポリペプチド；

(e) 配列番号8に記載のアミノ酸配列を有するポリペプチドの、種相同体ポリペプチド；または

(f) (a) ~ (e) のいずれか1つのポリペプチドのアミノ酸配列に対する同一性が少なくとも70%であるアミノ酸配列からなり、かつ、生物学的活性を有する、ポリペプチド、
を含む、請求項81に記載の組成物。

【請求項 83】 前記MAGポリペプチドは、配列番号8のアミノ酸配列の1位~626位を含む、請求項81に記載の組成物。

【請求項 84】 前記神経は、脊髄損傷、脳血管障害または脳外傷を含む状態にある、請求項81に記載の組成物。

【請求項 85】 前記因子は、抗体を含む、請求項81に記載の組成物。

【請求項 86】 神経を再生するための組成物であって、MAGポリペプチドをコードする核酸分子に対して特異的に相互作用する因子を含む、組成物。

【請求項 87】 前記MAGポリペプチドをコードする核酸分子は、

(a) 配列番号7に記載の塩基配列のヌクレオチドまたはそのフラグメント配列を有する、ポリヌクレオチド；

(b) 配列番号8に記載のアミノ酸配列のアミノ酸またはそのフラグメントをコードする、ポリヌクレオチド、

(c) 配列番号8に記載のアミノ酸配列のアミノ酸において、1以上のア

ミノ酸が、置換、付加および欠失からなる群より選択される少なくとも1つの変異を有する改変体ポリペプチドであって、生物学的活性を有する改変体ポリペプチドをコードする、ポリヌクレオチド；

(d) 配列番号7に記載の塩基配列のヌクレオチドのスプライス変異体または対立遺伝子変異体である、ポリヌクレオチド；

(e) 配列番号8に記載のアミノ酸配列のアミノ酸からなるポリペプチドの種相同体をコードする、ポリヌクレオチド；

(f) (a) ~ (e) のいずれか1つのポリヌクレオチドにストリンジェントな条件下でハイブリダイズし、かつ生物学的活性を有するポリペプチドをコードするポリヌクレオチド；または

(g) (a) ~ (e) のいずれか1つのポリヌクレオチドまたはその相補配列に対する同一性が少なくとも70%である塩基配列からなり、かつ、生物学的活性を有するポリペプチドをコードするポリヌクレオチド、からなる群より選択される、ポリヌクレオチド、を含む、請求項86に記載の組成物。

【請求項88】 前記MAGポリペプチドをコードする核酸分子は、配列番号7の核酸配列において、1位~2475位の範囲を含む、請求項86に記載の組成物。

【請求項89】 前記神経は、脊髄損傷、脳血管障害または脳外傷を含む状態にある、請求項86に記載の組成物。

【請求項90】 前記因子は、MAGポリペプチドをコードする核酸分子のアンチセンスまたはRNAiである、請求項86に記載の組成物。

【請求項91】 神経を再生するための組成物であって、Rhoポリペプチドに対して特異的に相互作用する因子を含む、組成物。

【請求項92】 前記Rhoポリペプチドは、

(a) 配列番号11に記載の核酸配列のヌクレオチドもしくはそのフラグメントによってコードされる、ポリペプチド；

(b) 配列番号12に記載のアミノ酸配列のアミノ酸もしくはそのフラグメントを有する、ポリペプチド；

(c) 配列番号 12 に記載のアミノ酸配列のアミノ酸において、1 以上のアミノ酸が、置換、付加および欠失からなる群より選択される少なくとも 1 つの変異を有する改変体ポリペプチドであって、生物学的活性を有する、改変体ポリペプチド

(d) 配列番号 11 に記載の塩基配列のヌクレオチドのスプライス改変体もしくは対立遺伝子改変体によってコードされる、ポリペプチド;

(e) 配列番号 12 に記載のアミノ酸配列のアミノ酸を有するポリペプチドの、種相同体ポリペプチド; または

(f) (a) ~ (e) のいずれか 1 つのポリペプチドのアミノ酸配列に対する同一性が少なくとも 70 % であるアミノ酸配列からなり、かつ、生物学的活性を有する、ポリペプチド、
を含む、請求項 91 に記載の組成物。

【請求項 93】 前記 R h o ポリペプチドは、配列番号 12 のアミノ酸の 1 位 ~ 193 位を含む、請求項 91 に記載の組成物。

【請求項 94】 前記神経は、脊髄損傷、脳血管障害または脳外傷を含む状態にある、請求項 91 に記載の組成物。

【請求項 95】 前記因子は、抗体を含む、請求項 91 に記載の組成物。

【請求項 96】 神経を再生するための組成物であって、R h o ポリペプチドをコードする核酸分子に対して特異的に相互作用する因子を含む、組成物。

【請求項 97】 前記 R h o ポリペプチドをコードする核酸分子は、

(a) 配列番号 11 に記載の塩基配列のヌクレオチドまたはそのフラグメント配列を有する、ポリヌクレオチド;

(b) 配列番号 12 に記載のアミノ酸配列のアミノ酸またはそのフラグメントをコードする、ポリヌクレオチド、

(c) 配列番号 12 に記載のアミノ酸配列のアミノ酸において、1 以上のアミノ酸が、置換、付加および欠失からなる群より選択される少なくとも 1 つの変異を有する改変体ポリペプチドであって、生物学的活性を有する改変体ポリペプチドをコードする、ポリヌクレオチド;

(d) 配列番号 11 に記載の塩基配列のヌクレオチドのスプライス変異体

または対立遺伝子変異体である、ポリヌクレオチド；

(e) 配列番号 12 に記載のアミノ酸配列のアミノ酸からなるポリペプチドの種相同体をコードする、ポリヌクレオチド；

(f) (a) ～ (e) のいずれか 1 つのポリヌクレオチドにストリンジェントな条件下でハイブリダイズし、かつ生物学的活性を有するポリペプチドをコードするポリヌクレオチド；または

(g) (a) ～ (e) のいずれか 1 つのポリヌクレオチドまたはその相補配列に対する同一性が少なくとも 70 % である塩基配列からなり、かつ、生物学的活性を有するポリペプチドをコードするポリヌクレオチド、からなる群より選択される、ポリヌクレオチド、を含む、請求項 96 に記載の組成物。

【請求項 98】 前記 R h o ポリペプチドをコードする核酸分子は、配列番号 11 の 1 位～579 位を含む、請求項 96 に記載の組成物。

【請求項 99】 前記神経は、脊髄損傷、脳血管障害または脳外傷を含む状態にある、請求項 96 に記載の組成物。

【請求項 100】 前記因子は、アンチセンス分子または R N A i を含む、請求項 96 に記載の組成物。

【請求項 101】 神経を再生するための組成物であって、R h o キナーゼポリペプチドに対して特異的に相互作用する因子を含む、組成物。

【請求項 102】 前記 R h o キナーゼポリペプチドは、

(a) 配列番号 18 に記載の核酸配列のヌクレオチドもしくはそのフラグメントによってコードされる、ポリペプチド；

(b) 配列番号 19 に記載のアミノ酸配列のアミノ酸もしくはそのフラグメントを有する、ポリペプチド；

(c) 配列番号 19 に記載のアミノ酸配列のアミノ酸において、1 以上のアミノ酸が、置換、付加および欠失からなる群より選択される少なくとも 1 つの変異を有する改変体ポリペプチドであって、生物学的活性を有する、改変体ポリペプチド

(d) 配列番号 18 に記載の塩基配列のヌクレオチドのスプライス改変体

もしくは対立遺伝子改変体によってコードされる、ポリペプチド；

(e) 配列番号 19 に記載のアミノ酸配列のアミノ酸を有するポリペプチドの、種相同体ポリペプチド；または

(f) (a) ~ (e) のいずれか 1 つのポリペプチドのアミノ酸配列に対する同一性が少なくとも 70 % であるアミノ酸配列からなり、かつ、生物学的活性を有する、ポリペプチド、
を含む、請求項 101 に記載の組成物。

【請求項 103】 前記 R h o キナーゼポリペプチドは、配列番号 19 のアミノ酸の 1 位 ~ 1388 位を含む、請求項 101 に記載の組成物。

【請求項 104】 前記神経は、脊髄損傷、脳血管障害または脳外傷を含む状態にある、請求項 101 に記載の組成物。

【請求項 105】 前記因子は、抗体を含む、請求項 101 に記載の組成物。
。

【請求項 106】 神経を再生するための組成物であって、R h o キナーゼポリペプチドをコードする核酸分子に対して特異的に相互作用する因子を含む、組成物。

【請求項 107】 前記 R h o キナーゼポリペプチドをコードする核酸分子は、

(a) 配列番号 18 に記載の塩基配列のヌクレオチドまたはそのフラグメント配列を有する、ポリヌクレオチド；

(b) 配列番号 19 に記載のアミノ酸配列のアミノ酸またはそのフラグメントをコードする、ポリヌクレオチド、

(c) 配列番号 19 に記載のアミノ酸配列のアミノ酸において、1 以上のアミノ酸が、置換、付加および欠失からなる群より選択される少なくとも 1 つの変異を有する改変体ポリペプチドであって、生物学的活性を有する改変体ポリペプチドをコードする、ポリヌクレオチド；

(d) 配列番号 18 に記載の塩基配列のヌクレオチドのスプライス変異体または対立遺伝子変異体である、ポリヌクレオチド；

(e) 配列番号 19 に記載のアミノ酸配列のアミノ酸からなるポリペプチ

ドの種相同体をコードする、ポリヌクレオチド；

(f) (a) ~ (e) のいずれか 1 つのポリヌクレオチドにストリンジェントな条件下でハイブリダイズし、かつ生物学的活性を有するポリペプチドをコードするポリヌクレオチド；または

(g) (a) ~ (e) のいずれか 1 つのポリヌクレオチドまたはその相補配列に対する同一性が少なくとも 70% である塩基配列からなり、かつ、生物学的活性を有するポリペプチドをコードするポリヌクレオチド、
からなる群より選択される、ポリヌクレオチド、
を含む、請求項 106 に記載の組成物。

【請求項 108】 前記 R h o キナーゼは、配列番号 18 の 1 位 ~ 4164 位を含む、請求項 106 に記載の組成物。

【請求項 109】 前記神経は、脊髄損傷、脳血管障害または脳外傷を含む状態にある、請求項 106 に記載の組成物。

【請求項 110】 前記因子は、アンチセンス分子または R N A i を含む、請求項 106 に記載の組成物。

【請求項 111】 神経を再生するための組成物であって、p 21 ポリペプチドを含む、組成物。

【請求項 112】 前記 p 21 ポリペプチドは、

(a) 配列番号 13 または配列番号 22 に記載の核酸配列のヌクレオチドもしくはそのフラグメントによってコードされる、ポリペプチド；

(b) 配列番号 14 または配列番号 23 に記載のアミノ酸配列のアミノ酸もしくはそのフラグメントを有する、ポリペプチド；

(c) 配列番号 14 または配列番号 23 に記載のアミノ酸配列のアミノ酸において、1 以上のアミノ酸が、置換、付加および欠失からなる群より選択される少なくとも 1 つの変異を有する改変体ポリペプチドであって、生物学的活性を有する、改変体ポリペプチド

(d) 配列番号 13 または配列番号 22 に記載の塩基配列のヌクレオチドのスプライス改変体もしくは対立遺伝子改変体によってコードされる、ポリペプチド；

(e) 配列番号 14 または配列番号 23 に記載のアミノ酸配列のアミノ酸を有するポリペプチドの、種相同体ポリペプチド; または

(f) (a) ~ (e) のいずれか 1 つのポリペプチドのアミノ酸配列に対する同一性が少なくとも 70 % であるアミノ酸配列からなり、かつ、生物学的活性を有する、ポリペプチド、
を含む、請求項 111 に記載の組成物。

【請求項 113】 前記 p21 ポリペプチドは、配列番号 14 または配列番号 23 のアミノ酸の 1 位 ~ 140 位を含む、請求項 111 に記載の組成物。

【請求項 114】 前記神経は、脊髄損傷、脳血管障害または脳外傷を含む状態にある、請求項 111 に記載の組成物。

【請求項 115】 前記 p21 ポリペプチドは、さらに、PTD ドメインを含む、請求項 111 に記載の組成物。

【請求項 116】 前記 PTD ドメインは、YGRKKRRQRRR またはその 1 または数個の置換、付加および/もしくは欠失を含むアミノ酸配列を有する、請求項 115 に記載の組成物。

【請求項 117】 前記 PTD ドメインは、前記 p21 ポリペプチドの C 末端側または N 末端側に配置される、請求項 115 に記載の組成物。

【請求項 118】 前記 p21 ポリペプチドは、核移行ドメインを実質的に含まない、請求項 111 に記載の組成物。

【請求項 119】 前記 p21 ポリペプチドは、さらに、PTD ドメインを含み、かつ、該 p21 ポリペプチドは、核移行ドメインを実質的に含まない、請求項 111 に記載の組成物。

【請求項 120】 前記 p21 ポリペプチドは、さらに、PTD ドメインを含み、かつ、該 p21 ポリペプチドは、核移行ドメインを実質的に含まず、該 PTD ドメインは該 p21 ポリペプチドの C 末端側に配置される、請求項 111 に記載の組成物。

【請求項 121】 神経を再生するための組成物であって、p21 ポリペプチドをコードする核酸分子を含む、組成物。

【請求項 122】 前記 p21 ポリペプチドをコードする核酸分子は、

(a) 配列番号 13 または配列番号 22 に記載の塩基配列のヌクレオチドまたはそのフラグメント配列を有する、ポリヌクレオチド；

(b) 配列番号 14 または配列番号 23 に記載のアミノ酸配列のアミノ酸またはそのフラグメントをコードする、ポリヌクレオチド；

(c) 配列番号 14 または配列番号 23 に記載のアミノ酸配列のアミノ酸において、1 以上のアミノ酸が、置換、付加および欠失からなる群より選択される少なくとも 1 つの変異を有する改変体ポリペプチドであって、生物学的活性を有する改変体ポリペプチドをコードする、ポリヌクレオチド；

(d) 配列番号 13 または配列番号 22 に記載の塩基配列のヌクレオチドのスプライス変異体または対立遺伝子変異体である、ポリヌクレオチド；

(e) 配列番号 14 または配列番号 23 に記載のアミノ酸配列のアミノ酸からなるポリペプチドの種相同体をコードする、ポリヌクレオチド；

(f) (a) ~ (e) のいずれか 1 つのポリヌクレオチドにストリンジェントな条件下でハイブリダイズし、かつ生物学的活性を有するポリペプチドをコードするポリヌクレオチド；または

(g) (a) ~ (e) のいずれか 1 つのポリヌクレオチドまたはその相補配列に対する同一性が少なくとも 70 % である塩基配列からなり、かつ、生物学的活性を有するポリペプチドをコードするポリヌクレオチド、からなる群より選択される、ポリヌクレオチド、を含む、請求項 121 に記載の組成物。

【請求項 123】 前記 p 21 ポリペプチドをコードする核酸分子は、配列番号 13 または配列番号 22 の塩基配列の 1 位 ~ 420 位を含む、請求項 121 に記載の組成物。

【請求項 124】 前記神経は、脊髄損傷、脳血管障害または脳外傷を含む状態にある、請求項 121 に記載の組成物。

【請求項 125】 前記 p 21 ポリペプチドをコードする核酸分子は、さらに、PTD ドメインをコードする因子を含む、請求項 121 に記載の組成物。

【請求項 126】 前記 PTD ドメインは、YGRKKRRQRRR またはその 1 または数個の置換、付加および／もしくは欠失を含むアミノ酸配列を有す

る、請求項 125 に記載の組成物。

【請求項 127】 前記 PTD ドメインをコードする配列は、前記 p21 ポリペプチドをコードする配列の 5' 末端側または 3' 末端側に配置される、請求項 125 に記載の組成物。

【請求項 128】 前記 p21 ポリペプチドをコードする核酸分子は、核移行ドメインをコードする配列を実質的に含まない、請求項 121 に記載の組成物。

【請求項 129】 前記 p21 ポリペプチドをコードする核酸分子は、さらに、PTD ドメインをコードする配列を含み、かつ、該 p21 ポリペプチドをコードする核酸分子は、核移行ドメインをコードする配列を実質的に含まない、請求項 121 に記載の組成物。

【請求項 130】 前記 p21 ポリペプチドをコードする核酸分子は、さらに、PTD ドメインをコードする配列を含み、かつ、該 p21 ポリペプチドをコードする核酸分子は、核移行ドメインをコードする配列を実質的に含まず、該 PTD ドメインをコードする配列は該 p21 ポリペプチドをコードする核酸分子の 3' 末端側に配置される、請求項 121 に記載の組成物。

【請求項 131】 PTD ドメインおよび神経再生因子を含む、神経を再生するための組成物。

【請求項 132】 前記神経再生因子は、p75 シグナル伝達経路を阻害する、請求項 131 に記載の組成物。

【請求項 133】 前記神経再生因子は、p75 シグナル伝達経路における伝達因子もしくはその改変体もしくはフラグメント、または p75 シグナル伝達経路における伝達因子に対して特異的に相互作用する因子を含む、請求項 131 に記載の組成物。

【請求項 134】 前記 p75 シグナル伝達経路における伝達因子は、MAG、G1b、p75、Rho GDI、Rho、p21 および Rho キナーゼからなる群より選択される少なくとも 1 つの伝達因子を含む、請求項 133 に記載の組成物。

【請求項 135】 前記神経再生因子は、MAG と G1b との相互作用の

阻害、G T 1 b と p 7 5 との相互作用の阻害、p 7 5 と R h o との相互作用の阻害、p 7 5 と R h o G D I との相互作用の阻害、R h o と R h o G D I との相互作用の維持または強化、R h o G D P から R h o G T P への変換阻害、R h o と R h o キナーゼとの相互作用の阻害および R h o キナーゼの活性阻害からなる群より選択される少なくとも 1 つの作用を有する、請求項 1 3 1 に記載の組成物。

【請求項 1 3 6】 前記神経再生因子は、M A G と G T 1 b との相互作用を抑制または消失する因子、G T 1 b と p 7 5 との相互作用を抑制または消失する因子、p 7 5 と R h o G D I との相互作用を抑制または消失する因子、p 7 5 と R h o との相互作用を抑制または消失する因子、R h o と R h o G D I との相互作用を維持または強化する因子、R h o G D P から R h o G T P への変換を阻害する因子、R h o と R h o キナーゼとの相互作用を阻害する因子、および R h o キナーゼの活性を阻害する因子からなる群より選択される少なくとも 1 つの因子を含む、請求項 1 3 1 に記載の組成物。

【請求項 1 3 7】 前記神経再生因子は、P e p 5 ポリペプチド、P e p 5 ポリペプチドをコードする核酸分子、p 7 5 ポリペプチドに対して特異的に相互作用する因子、p 7 5 ポリペプチドをコードする核酸分子に対して特異的に相互作用する因子、p 7 5 細胞外ドメインポリペプチド、p 7 5 細胞外ドメインポリペプチドをコードする核酸分子、R h o G D I ポリペプチドに対して特異的に相互作用する因子、R h o G D I ポリペプチドをコードする核酸分子に対して特異的に相互作用する因子、R h o G D I ポリペプチド、R h o G D I ポリペプチドをコードする核酸分子、M A G ポリペプチドに対して特異的に相互作用する因子、M A G ポリペプチドをコードする核酸分子に対して特異的に相互作用する因子、p 2 1 ポリペプチド、p 2 1 をコードする核酸分子、R h o ポリペプチドに対して特異的に相互作用する因子、R h o ポリペプチドをコードする核酸分子に対して特異的に相互作用する因子、R h o キナーゼに対して特異的に相互作用する因子および R h o キナーゼをコードする核酸分子に対して特異的に相互作用する因子ならびにその改変体およびフラグメントからなる群より選択される因子を含む、請求項 1 3 1 に記載の組成物。

【請求項 138】 前記 PTD ドメインは、YGRKKRRQRRR またはその 1 または数個の置換、付加および／もしくは欠失を含むアミノ酸配列を有する、請求項 131 に記載の組成物。

【請求項 139】 前記 PTD ドメインは、前記神経再生因子の C 末端側または N 末端側に配置される、請求項 131 に記載の組成物。

【請求項 140】 前記神経再生因子は、細胞質に留まり得る、請求項 131 に記載の組成物。

【請求項 141】 PTD ドメインをコードする核酸配列および神経再生因子をコードする核酸配列を含む核酸分子を含む、神経を再生するための組成物。

【請求項 142】 前記神経再生因子は、p75 シグナル伝達経路を阻害する、請求項 141 に記載の組成物。

【請求項 143】 前記神経再生因子は、p75 シグナル伝達経路における伝達因子もしくはその改変体もしくはフラグメント、または p75 シグナル伝達経路における伝達因子に対して特異的に相互作用する因子を含む、請求項 141 に記載の組成物。

【請求項 144】 前記 p75 シグナル伝達経路における伝達因子は、MAG、GTLb、p75、RhogDI、Rhog、p21 および Rhokinaze からなる群より選択される少なくとも 1 つの伝達因子を含む、請求項 143 に記載の組成物。

【請求項 145】 前記神経再生因子は、MAG と GTLb との相互作用の阻害、GTLb と p75 との相互作用の阻害、p75 と Rhog との相互作用の阻害、p75 と RhogDI との相互作用の阻害、Rhog と RhogDI との相互作用の維持または強化、RhogDP から RhogTP への変換阻害、Rhog と Rhokinaze との相互作用の阻害および Rhokinaze の活性阻害からなる群より選択される少なくとも 1 つの作用を有する、請求項 141 に記載の組成物。

【請求項 146】 前記神経再生因子は、MAG と GTLb との相互作用を抑制または消失する因子、GTLb と p75 との相互作用を抑制または消失する因子、p75 と RhogDI との相互作用を抑制または消失する因子、p75

と R h o との相互作用を抑制または消失する因子、R h o と R h o G D I との相互作用を維持または強化する因子、R h o G D P から R h o G T P への変換を阻害する因子、R h o と R h o キナーゼとの相互作用を阻害する因子、および R h o キナーゼの活性を阻害する因子からなる群より選択される少なくとも 1 つの因子を含む、請求項 1 4 1 に記載の組成物。

【請求項 1 4 7】 前記神経再生因子は、P e p 5 ポリペプチド、p 7 5 ポリペプチドに対して特異的に相互作用する因子、p 7 5 ポリペプチドをコードする核酸分子に対して特異的に相互作用する因子、p 7 5 細胞外ドメインポリペプチド、R h o G D I ポリペプチド、M A G ポリペプチドに対して特異的に相互作用する因子、M A G ポリペプチドをコードする核酸分子に対して特異的に相互作用する因子、p 2 1 ポリペプチド、R h o ポリペプチドに対して特異的に相互作用する因子、R h o ポリペプチドをコードする核酸分子に対して特異的に相互作用する因子、R h o キナーゼに対して特異的に相互作用する因子および R h o キナーゼをコードする核酸分子に対して特異的に相互作用する因子ならびにその改変体およびフラグメントからなる群より選択される因子を含む、請求項 1 4 1 に記載の組成物。

【請求項 1 4 8】 前記 P T D ドメインは、Y G R K K R R Q R R R またはその 1 または数個の置換、付加および／もしくは欠失を含むアミノ酸配列を有する、請求項 1 4 1 に記載の組成物。

【請求項 1 4 9】 前記 P T D ドメインをコードする配列は、前記神経再生因子の 5' 末端側または 3' 末端側に配置される、請求項 1 4 1 に記載の組成物。

【請求項 1 5 0】 前記神経再生因子は、細胞質中に留まり得る、請求項 1 4 1 に記載の組成物。

【請求項 1 5 1】 神経突起伸展の阻害を破壊または減少する方法であって、p 7 5 シグナル伝達経路を阻害する工程を含む、方法。

【請求項 1 5 2】 前記 p 7 5 シグナル伝達経路の阻害は、p 7 5 シグナル伝達経路における伝達因子もしくはその改変体もしくはフラグメント、または p 7 5 シグナル伝達経路における伝達因子に対して特異的に相互作用する因子を再

生に有効な量で提供することによる、請求項151に記載の方法。

【請求項153】 前記p75シグナル伝達経路における伝達因子は、MAG、G1b、p75、Rho GDI、Rho、p21およびRhoキナーゼからなる群より選択される少なくとも1つの伝達因子を含む、請求項151に記載の方法。

【請求項154】 前記p75シグナル伝達経路の阻害は、MAGとG1bとの相互作用の阻害、G1bとp75との相互作用の阻害、p75とRhoとの相互作用の阻害、p75とRho GDIとの相互作用の阻害、RhoとRho GDIとの相互作用の維持または強化、Rho GDPからRho GTPへの変換阻害、RhoとRhoキナーゼとの相互作用の阻害およびRhoキナーゼの活性阻害からなる群より選択される、請求項151に記載の方法。

【請求項155】 前記p75シグナル伝達経路の阻害は、MAGとG1bとの相互作用を抑制または消失する因子、G1bとp75との相互作用を抑制または消失する因子、p75とRho GDIとの相互作用を抑制または消失する因子、p75とRhoとの相互作用を抑制または消失する因子、RhoとRho GDIとの相互作用を維持または強化する因子、Rho GDPからRho GTPへの変換を阻害する因子、RhoとRhoキナーゼとの相互作用を阻害する因子、およびRhoキナーゼの活性を阻害する因子からなる群より選択される少なくとも1つの因子を再生に有効な量で提供することによる、請求項151に記載の方法。

【請求項156】 前記p75シグナル伝達経路を阻害する工程は、再生に有効な量の、Pep5ポリペプチド、Pep5ポリペプチドをコードする核酸分子、p75ポリペプチドに対して特異的に相互作用する因子、p75ポリペプチドをコードする核酸分子に対して特異的に相互作用する因子、p75細胞外ドメインポリペプチド、p75細胞外ドメインポリペプチドをコードする核酸分子、Rho GDIポリペプチドに対して特異的に相互作用する因子、Rho GDIポリペプチドをコードする核酸分子に対して特異的に相互作用する因子、Rho GDIポリペプチド、Rho GDIポリペプチドをコードする核酸分子、MAGポリペプチドに対して特異的に相互作用する因子、MAGポリペプチドを

コードする核酸分子に対して特異的に相互作用する因子、p 21 ポリペプチド、p 21 をコードする核酸分子、R h o ポリペプチドに対して特異的に相互作用する因子、R h o ポリペプチドをコードする核酸分子に対して特異的に相互作用する因子、R h o キナーゼに対して特異的に相互作用する因子および R h o キナーゼをコードする核酸分子に対して特異的に相互作用する因子ならびにその改変体およびフラグメントからなる群より選択される少なくとも 1 つの分子を含む組成物を該神経に与える工程、

を包含する、請求項 151 に記載の方法。

【請求項 157】 前記因子は、PTD ドメインに結合する、請求項 153 に記載の方法。

【請求項 158】 p 75 シグナル伝達経路を阻害する因子を含む、神経突起伸展の阻害を破壊または減少する組成物。

【請求項 159】 前記 p 75 シグナル伝達経路を阻害する因子は、神経再生が所望される部位における神経細胞に送達されるのに適切な形態である、請求項 158 に記載の組成物。

【請求項 160】 前記 p 75 シグナル伝達経路を阻害する因子は、p 75 シグナル伝達経路における伝達因子もしくはその改変体もしくはフラグメント、または p 75 シグナル伝達経路における伝達因子に対して特異的に相互作用する因子を含む、請求項 158 に記載の組成物。

【請求項 161】 前記 p 75 シグナル伝達経路における伝達因子は、MAG、G T 1 b、p 75、R h o G D I、R h o、p 21 および R h o キナーゼからなる群より選択される少なくとも 1 つの伝達因子を含む、請求項 160 に記載の組成物。

【請求項 162】 前記 p 75 シグナル伝達経路を阻害する因子は、MAG と G T 1 b との相互作用の阻害、G T 1 b と p 75 との相互作用の阻害、p 75 と R h o との相互作用の阻害、p 75 と R h o G D I との相互作用の阻害、R h o と R h o G D I との相互作用の維持または強化、R h o G D P から R h o G T P への変換阻害、R h o と R h o キナーゼとの相互作用の阻害および R h o キナーゼの活性阻害からなる群より選択される少なくとも 1 つの作用を有する、

請求項 158 に記載の組成物。

【請求項 163】 前記 p 75 シグナル伝達経路を阻害する因子は、MAG と G T 1 b との相互作用を抑制または消失する因子、G T 1 b と p 75 との相互作用を抑制または消失する因子、p 75 と R h o G D I との相互作用を抑制または消失する因子、p 75 と R h o との相互作用を抑制または消失する因子、R h o と R h o G D I との相互作用を維持または強化する因子、R h o G D P から R h o G T P への変換を阻害する因子、R h o と R h o キナーゼとの相互作用を阻害する因子、および R h o キナーゼの活性を阻害する因子からなる群より選択される少なくとも 1 つの因子を含み、該前記 p 75 シグナル伝達経路を阻害する因子は、再生に有効な量で存在する、請求項 158 に記載の組成物。

【請求項 164】 前記 p 75 シグナル伝達経路を阻害する因子は、P e p 5 ポリペプチド、P e p 5 ポリペプチドをコードする核酸分子、p 75 ポリペプチドに対して特異的に相互作用する因子、p 75 ポリペプチドをコードする核酸分子に対して特異的に相互作用する因子、p 75 細胞外ドメインポリペプチド、p 75 細胞外ドメインポリペプチドをコードする核酸分子、R h o G D I ポリペプチドに対して特異的に相互作用する因子、R h o G D I ポリペプチドをコードする核酸分子に対して特異的に相互作用する因子、R h o G D I ポリペプチド、R h o G D I ポリペプチドをコードする核酸分子、MAG ポリペプチドに対して特異的に相互作用する因子、MAG ポリペプチドをコードする核酸分子に対して特異的に相互作用する因子、p 21 ポリペプチド、p 21 をコードする核酸分子、R h o ポリペプチドに対して特異的に相互作用する因子、R h o ポリペプチドをコードする核酸分子に対して特異的に相互作用する因子、R h o キナーゼに対して特異的に相互作用する因子および R h o キナーゼをコードする核酸分子に対して特異的に相互作用する因子ならびにその改変体およびフラグメントからなる群より選択される少なくとも 1 つの分子を含む、請求項 158 に記載の組成物。

【請求項 165】 前記因子は、P T D ドメインに結合する、請求項 158 に記載の組成物。

【請求項 166】 神経細胞のネットワークの構築のための方法であって、

該神経細胞における p 7 5 シグナル伝達経路を阻害する工程を含む、方法。

【請求項 167】 前記 p 7 5 シグナル伝達経路の阻害は、p 7 5 シグナル伝達経路における伝達因子もしくはその改変体もしくはフラグメント、または p 7 5 シグナル伝達経路における伝達因子に対して特異的に相互作用する因子を再生に有効な量で前記神経細胞に提供することによる、請求項 166 に記載の方法。

【請求項 168】 前記 p 7 5 シグナル伝達経路における伝達因子は、MAG、G T 1 b、p 7 5、R h o G D I、R h o、p 2 1 および R h o キナーゼからなる群より選択される少なくとも 1 つの伝達因子を含む、請求項 166 に記載の方法。

【請求項 169】 前記 p 7 5 シグナル伝達経路の阻害は、MAG と G T 1 b との相互作用の阻害、G T 1 b と p 7 5 との相互作用の阻害、p 7 5 と R h o との相互作用の阻害、p 7 5 と R h o G D I との相互作用の阻害、R h o と R h o G D I との相互作用の維持または強化、R h o G D P から R h o G T P への変換阻害、R h o と R h o キナーゼとの相互作用の阻害および R h o キナーゼの活性阻害からなる群より選択される、請求項 166 に記載の方法。

【請求項 170】 前記 p 7 5 シグナル伝達経路の阻害は、MAG と G T 1 b との相互作用を抑制または消失する因子、G T 1 b と p 7 5 との相互作用を抑制または消失する因子、p 7 5 と R h o G D I との相互作用を抑制または消失する因子、p 7 5 と R h o との相互作用を抑制または消失する因子、R h o と R h o G D I との相互作用を維持または強化する因子、R h o G D P から R h o G T P への変換を阻害する因子、R h o と R h o キナーゼとの相互作用を阻害する因子、および R h o キナーゼの活性を阻害する因子からなる群より選択される少なくとも 1 つの因子を再生に有効な量で提供することによる、請求項 166 に記載の方法。

【請求項 171】 前記 p 7 5 シグナル伝達経路を阻害する工程は、再生に有効な量の、P e p 5 ポリペプチド、P e p 5 ポリペプチドをコードする核酸分子、p 7 5 ポリペプチドに対して特異的に相互作用する因子、p 7 5 ポリペプチドをコードする核酸分子に対して特異的に相互作用する因子、p 7 5 細胞外ドメ

インポリペプチド、p 75細胞外ドメインポリペプチドをコードする核酸分子、R h o G D I ポリペプチドに対して特異的に相互作用する因子、R h o G D I ポリペプチドをコードする核酸分子に対して特異的に相互作用する因子、R h o G D I ポリペプチド、R h o G D I ポリペプチドをコードする核酸分子、M A G ポリペプチドに対して特異的に相互作用する因子、M A G ポリペプチドをコードする核酸分子に対して特異的に相互作用する因子、p 21ポリペプチド、p 21をコードする核酸分子、R h o ポリペプチドに対して特異的に相互作用する因子、R h o ポリペプチドをコードする核酸分子に対して特異的に相互作用する因子、R h o キナーゼに対して特異的に相互作用する因子およびR h o キナーゼをコードする核酸分子に対して特異的に相互作用する因子ならびにその改変体およびフラグメントからなる群より選択される少なくとも1つの分子を含む組成物を該神経に与える工程、

を包含する、請求項166に記載の方法。

【請求項172】 前記因子は、P T Dドメインに結合する、請求項167に記載の方法。

【請求項173】 p 75シグナル伝達経路を阻害する因子を含む、神経細胞のネットワークの構築のための組成物。

【請求項174】 前記p 75シグナル伝達経路を阻害する因子は、p 75シグナル伝達経路における伝達因子もしくはその改変体もしくはフラグメント、またはp 75シグナル伝達経路における伝達因子に対して特異的に相互作用する因子を含む、請求項173に記載の組成物。

【請求項175】 前記p 75シグナル伝達経路における伝達因子は、M A G、G T 1 b、p 75、R h o G D I、R h o、p 21およびR h o キナーゼからなる群より選択される少なくとも1つの伝達因子を含む、請求項174に記載の組成物。

【請求項176】 前記p 75シグナル伝達経路を阻害する因子は、M A GとG T 1 bとの相互作用の阻害、G T 1 bとp 75との相互作用の阻害、p 75とR h oとの相互作用の阻害、p 75とR h o G D Iとの相互作用の阻害、R h oとR h o G D Iとの相互作用の維持または強化、R h o G D PからR h o

GTPへの変換阻害、RhoとRhoキナーゼとの相互作用の阻害およびRhoキナーゼの活性阻害からなる群より選択される少なくとも1つの作用を有する、請求項173に記載の組成物。

【請求項177】 前記p75シグナル伝達経路を阻害する因子は、MAGとG1bとの相互作用を抑制または消失する因子、G1bとp75との相互作用を抑制または消失する因子、p75とRho GDIとの相互作用を抑制または消失する因子、p75とRhoとの相互作用を抑制または消失する因子、RhoとRho GDIとの相互作用を維持または強化する因子、RhoGDPからRhoGTPへの変換を阻害する因子、RhoとRhoキナーゼとの相互作用を阻害する因子、およびRhoキナーゼの活性を阻害する因子からなる群より選択される少なくとも1つの因子を含み、該前記p75シグナル伝達経路を阻害する因子は、再生に有効な量で存在する、請求項173に記載の組成物。

【請求項178】 前記p75シグナル伝達経路を阻害する因子は、Pe5ポリペプチド、Pe5ポリペプチドをコードする核酸分子、p75ポリペプチドに対して特異的に相互作用する因子、p75ポリペプチドをコードする核酸分子に対して特異的に相互作用する因子、p75細胞外ドメインポリペプチド、p75細胞外ドメインポリペプチドをコードする核酸分子、Rho GDIポリペプチドに対して特異的に相互作用する因子、Rho GDIポリペプチドをコードする核酸分子に対して特異的に相互作用する因子、Rho GDIポリペプチド、Rho GDIポリペプチドをコードする核酸分子、MAGポリペプチドに対して特異的に相互作用する因子、MAGポリペプチドをコードする核酸分子に対して特異的に相互作用する因子、p21ポリペプチド、p21をコードする核酸分子、Rhoポリペプチドに対して特異的に相互作用する因子、Rhoポリペプチドをコードする核酸分子に対して特異的に相互作用する因子、Rhoキナーゼに対して特異的に相互作用する因子およびRhoキナーゼをコードする核酸分子に対して特異的に相互作用する因子ならびにその改変体およびフラグメントからなる群より選択される少なくとも1つの分子を含む、請求項173に記載の組成物。

【請求項179】 前記因子は、PTDドメインに結合する、請求項174

に記載の組成物。

【請求項180】 神経学的疾患を処置するためのキットであって、

(A) p 75 シグナル伝達経路を阻害する因子を含む組成物によって再生された細胞集団；

(B) 該細胞集団を保存するための容器
を包含する、キット。

【請求項181】 前記前記 p 75 シグナル伝達経路を阻害する因子は、p 75 シグナル伝達経路における伝達因子もしくはその改変体もしくはフラグメント、または p 75 シグナル伝達経路における伝達因子に対して特異的に相互作用する因子を含む、請求項180に記載のキット。

【請求項182】 前記 p 75 シグナル伝達経路における伝達因子は、MAG、G T 1 b、p 75、R h o G D I、R h o、p 2 1 および R h o キナーゼからなる群より選択される少なくとも1つの伝達因子を含む、請求項181に記載のキット。

【請求項183】 前記 p 75 シグナル伝達経路を阻害する因子は、MAG と G T 1 b との相互作用の阻害、G T 1 b と p 75 との相互作用の阻害、p 75 と R h o との相互作用の阻害、p 75 と R h o G D I との相互作用の阻害、R h o と R h o G D I との相互作用の維持または強化、R h o G D P から R h o G T P への変換阻害、R h o と R h o キナーゼとの相互作用の阻害および R h o キナーゼの活性阻害からなる群より選択される少なくとも1つの作用を有する、請求項180に記載のキット。

【請求項184】 前記 p 75 シグナル伝達経路を阻害する因子は、MAG と G T 1 b との相互作用を抑制または消失する因子、G T 1 b と p 75 との相互作用を抑制または消失する因子、p 75 と R h o G D I との相互作用を抑制または消失する因子、p 75 と R h o との相互作用を抑制または消失する因子、R h o と R h o G D I との相互作用を維持または強化する因子、R h o G D P から R h o G T P への変換を阻害する因子、R h o と R h o キナーゼとの相互作用を阻害する因子、および R h o キナーゼの活性を阻害する因子からなる群より選択される少なくとも1つの因子を含み、該前記 p 75 シグナル伝達経路を阻害す

る因子は、再生に有効な量で存在する、請求項180に記載のキット。

【請求項185】 前記 p 7 5 シグナル伝達経路を阻害する因子は、P e p 5 ポリペプチド、P e p 5 ポリペプチドをコードする核酸分子、p 7 5 ポリペプチドに対して特異的に相互作用する因子、p 7 5 ポリペプチドをコードする核酸分子に対して特異的に相互作用する因子、p 7 5 細胞外ドメインポリペプチド、p 7 5 細胞外ドメインポリペプチドをコードする核酸分子、R h o G D I ポリペプチドに対して特異的に相互作用する因子、R h o G D I ポリペプチドをコードする核酸分子に対して特異的に相互作用する因子、R h o G D I ポリペプチド、R h o G D I ポリペプチドをコードする核酸分子、M A G ポリペプチドに対して特異的に相互作用する因子、M A G ポリペプチドをコードする核酸分子に対して特異的に相互作用する因子、p 2 1 ポリペプチド、p 2 1 をコードする核酸分子、R h o ポリペプチドに対して特異的に相互作用する因子、R h o ポリペプチドをコードする核酸分子に対して特異的に相互作用する因子、R h o キナーゼに対して特異的に相互作用する因子および R h o キナーゼをコードする核酸分子に対して特異的に相互作用する因子ならびにその改変体およびフラグメントからなる群より選択される少なくとも1つの分子を含む、請求項180に記載のキット。

【請求項186】 前記因子は、P T D ドメインに結合する、請求項181に記載のキット。

【請求項187】 神経学的疾患を処置するための方法であって、該方法は、以下：

(a) p 7 5 シグナル伝達経路を阻害する因子を含む組成物によって再生された細胞集団を提供する工程；および

(b) 該細胞集団を該患者に移植する工程、を包含する、方法。

【請求項188】 前記 p 7 5 シグナル伝達経路の阻害は、p 7 5 シグナル伝達経路における伝達因子もしくはその改変体もしくはフラグメント、または p 7 5 シグナル伝達経路における伝達因子に対して特異的に相互作用する因子を再生に有効な量で前記神経細胞に提供することによる、請求項187に記載の方法

。 【請求項189】 前記p75シグナル伝達経路における伝達因子は、MAG、G12b、p75、Rho GDI、Rho、p21およびRhoキナーゼからなる群より選択される少なくとも1つの伝達因子を含む、請求項188に記載の方法。

【請求項190】 前記p75シグナル伝達経路の阻害は、MAGとG12bとの相互作用の阻害、G12bとp75との相互作用の阻害、p75とRhoとの相互作用の阻害、p75とRho GDIとの相互作用の阻害、RhoとRho GDIとの相互作用の維持または強化、Rho GDPからRho GTPへの変換阻害、RhoとRhoキナーゼとの相互作用の阻害およびRhoキナーゼの活性阻害からなる群より選択される、請求項187に記載の方法。

【請求項191】 前記p75シグナル伝達経路の阻害は、MAGとG12bとの相互作用を抑制または消失する因子、G12bとp75との相互作用を抑制または消失する因子、p75とRho GDIとの相互作用を抑制または消失する因子、p75とRhoとの相互作用を抑制または消失する因子、RhoとRho GDIとの相互作用を維持または強化する因子、Rho GDPからRho GTPへの変換を阻害する因子、RhoとRhoキナーゼとの相互作用を阻害する因子、およびRhoキナーゼの活性を阻害する因子からなる群より選択される少なくとも1つの因子を再生に有効な量で提供することによる、請求項187に記載の方法。

【請求項192】 前記p75シグナル伝達経路を阻害する工程は、再生に有効な量の、Pep5ポリペプチド、Pep5ポリペプチドをコードする核酸分子、p75ポリペプチドに対して特異的に相互作用する因子、p75ポリペプチドをコードする核酸分子に対して特異的に相互作用する因子、p75細胞外ドメインポリペプチド、p75細胞外ドメインポリペプチドをコードする核酸分子、Rho GDIポリペプチドに対して特異的に相互作用する因子、Rho GDIポリペプチドをコードする核酸分子に対して特異的に相互作用する因子、Rho GDIポリペプチド、Rho GDIポリペプチドをコードする核酸分子、MAGポリペプチドに対して特異的に相互作用する因子、MAGポリペプチドを

コードする核酸分子に対して特異的に相互作用する因子、p 21 ポリペプチド、p 21 をコードする核酸分子、R h o ポリペプチドに対して特異的に相互作用する因子、R h o ポリペプチドをコードする核酸分子に対して特異的に相互作用する因子、R h o キナーゼに対して特異的に相互作用する因子およびR h o キナーゼをコードする核酸分子に対して特異的に相互作用する因子ならびにその改変体およびフラグメントからなる群より選択される少なくとも1つの分子を含む組成物を該神経に与える工程、

を包含する、請求項187に記載の方法。

【請求項193】 前記因子は、P T Dドメインに結合する、請求項188に記載の方法。

【請求項194】 神経再生を誘導する因子を同定するためのスクリーニング方法であって、該方法は、以下：

(a) p 75 シグナル伝達経路において相互作用する少なくとも2つの因子を、試験因子の存在下で接触させる工程、および

(b) 該少なくとも2つの相互作用する因子の間の相互作用レベルを、該試験因子の非存在下における相互作用レベルと比較する工程、を包含し、

ここで、該試験因子の非存在下と比較して、試験因子の存在下において相互作用が減少した場合、該試験因子は、神経を再生するための因子として同定される、方法。

【請求項195】 前記相互作用は、M A GとG T 1 bとの相互作用、G T 1 bとp 75との相互作用、p 75とR h oとの相互作用、p 75とR h o G D Iとの相互作用、R h oとR h o G D Iとの相互作用、R h o G D PからR h o G T Pへの変換、R h oとR h o キナーゼとの相互作用およびR h o キナーゼの活性からなる群より選択される少なくとも1つの相互作用を含み、

前記相互作用の減少は、M A GとG T 1 bとの相互作用の阻害、G T 1 bとp 75との相互作用の阻害、p 75とR h oとの相互作用の阻害、p 75とR h o G D Iとの相互作用の阻害、R h oとR h o G D Iとの相互作用の維持または強化、R h o G D PからR h o G T Pへの変換阻害、R h oとR h o キナーゼ

との相互作用の阻害および R h o キナーゼの活性阻害からなる群より選択される少なくとも 1 つの作用を含む、請求項 194 に記載の方法。

【請求項 196】 前記少なくとも 2 つの因子は、配列番号 4 または 17 に少なくとも 70 % 相同性であるアミノ酸配列を有する第 1 のポリペプチドまたはそのフラグメントおよび配列番号 6 に少なくとも 70 % 相同性であるアミノ酸配列を有する第 2 のポリペプチドまたはそのフラグメントを含み、

前記比較工程 (b) は、該第 1 のポリペプチドと該第 2 のポリペプチドとの間の結合レベルを、該試験因子の非存在下における結合レベルと比較することを含む、請求項 194 に記載の方法。

【請求項 197】 請求項 194 に記載の方法によって同定される、調節因子。

【請求項 198】 請求項 197 に記載の調節因子を含む、薬学的組成物。

【請求項 199】 神経学的疾患、障害または状態を、予防または処置する方法であって、該方法は、請求項 198 に記載の薬学的組成物を被験体に投与する工程を包含する、方法。

【請求項 200】 M A G ポリペプチドをコードする核酸分子、 p 75 ポリペプチドをコードする核酸分子、 R h o G D I ポリペプチドをコードする核酸分子、 R h o をコードする核酸分子、 p 21 をコードする核酸分子および R h o キナーゼをコードする核酸分子からなる群より選択される少なくとも 1 つの核酸分子の配列において野生型とは異なる配列が導入された配列を有する核酸分子を含む、ベクター。

【請求項 201】 請求項 200 に記載のベクターを含む、細胞。

【請求項 202】 請求項 200 に記載のベクターを含む、組織。

【請求項 203】 請求項 200 に記載のベクターを含む、臓器。

【請求項 204】 請求項 200 に記載のベクターを含む、生物。

【請求項 205】 請求項 200 に記載のベクターで形質転換された、神経改変トランスジェニック動物。

【請求項 206】 M A G ポリペプチドをコードする核酸分子、 p 75 ポリペプチドをコードする核酸分子、 R h o G D I ポリペプチドをコードする核酸

分子、Rhoをコードする核酸分子、p21をコードする核酸分子およびRhoキナーゼをコードする核酸分子からなる群より選択される少なくとも1つの核酸分子が欠失された、神経改変ノックアウト動物。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【発明の属する技術分野】

本発明は、神経学的疾患を処置するための薬学的組成物および方法、ならびに神経を再生する薬学的組成物および方法に関する。詳細には、神経突起伸展の阻害を破壊することによって、神経学的疾患を処置する薬学的組成物および方法に関する。

【0002】

【従来の技術】

ニューロトロフィンレセプター (p75^{NTR}) は、驚くべきほど多様な生物学的効果 (例えば、細胞死、シュヴァン細胞移動、シナプス伝達の調節、ならびに感覚ニューロンおよびカルシウム流動の機能的調節が挙げられる) を媒介する (例えば、非特許文献1を参照のこと)。近年の研究において、p75^{NTR}は、軸索伸長の調節にも関連付けられている。神経成長因子 (NGF) は、NGFレセプターに関してp75^{NTR}のみを発現する胚性ラット海馬ニューロンおよびヒヨコ毛様体ニューロンからの神経突起伸展を刺激する (例えば、非特許文献2を参照のこと)。これらの効果は、p75^{NTR}によるRho活性の調節の説明となり得る。Rhoは、アクチン重合化の状態を調節する低分子GTPaseである。その活性なGTP結合形態において、Rhoは、アクチン細胞骨格を堅くし、それによって、軸索伸長を阻害し、そして成長円錐の崩壊を媒介する (例えば、非特許文献3および4を参照のこと)。p75^{NTR}へのニューロトロフィン結合は、HN10e細胞および小脳ニューロンにおいてRhoAを不活性化し、一方、トランスフェクト293細胞におけるRhoAの過剰発現は、RhoAの活性化をもたらし、このことは、p75^{NTR}が双方向性のシグナルを誘発することを示唆する (例えば、非特許文献2を参照のこと)。実際、その後の研究によって、ミエリン由来の糖タンパク質であるミエリン結合糖タンパク質 (M

AG) が、p 7 5 N T R 依存性機構で R h o A を活性化し、ゆえに、生後感覚ニューロンおよび小脳ニューロンのからの神経突起伸展を阻害することが示されている（例えば、非特許文献 5 を参照のこと）。さらに、N o g o および稀突起神経膠細胞ミエリン糖タンパク質（O M g p）、神経突起伸展の他のミエリン由来インヒビターは、p 7 5 N T R を介してニューロンに作用する（例えば、非特許文献 6 を参照のこと）。N o g o レセプターと複合体化した p 7 5 N T R は、現在までに見出されている全ミエリン由来インヒビターに対するレセプターを形成することが示唆されている（例えば、非特許文献 6 および 7 を参照のこと）。しかし、p 7 5 N T R による R h o 活性の調節の正確な機構は、解明されるべきままの状態にある。

【 0 0 0 3 】

R h o A は、酵母ツーハイブリッドシステムおよび同時免疫沈降によって p 7 5 N T R と相互作用することが示されている（例えば、非特許文献 2 を参照のこと）。野生型 R h o A（これは、優先的に G D P 結合形態であるが、R h o A の構成性活性形態ではない）のみが p 7 5 N T R と相互作用するので、R h o A の活性化が、R h o A および p 7 5 N T R の直接的な相互作用に依存することが示唆される。G D P 結合形態の R h o タンパク質は、R h o G D P 解離抑制タンパク質（R h o G D I）と相互作用する。この R h o G D P 解離抑制タンパク質は、ヌクレオチド解離の阻害ならびに細胞質と膜との間の R h o タンパク質の往復に役割をはたす（例えば、非特許文献 8 を参照のこと）。R h o G D I は、R h o ファミリーのタンパク質が、膜に転位する活性な G T P 結合形態に変換されることを妨げる。さらに、R h o タンパク質の活性形態が膜において不活性形態に変換された後、R h o G D I は、その R h o タンパク質と複合体を形成し、そして細胞質ゾルに転位する。R h o G D I ファミリーは、少なくとも 3 つのアイソフォーム：R h o G D I α 、R h o G D I β 、および R h o G D I γ を含む。R h o G D I α は、遍在的に発現し、これまで研究されている R h o ファミリーのタンパク質の全てに結合し、一方、R h o G D I β および R h o G D I γ は、特有の組織発現パターンを示し、そしてこれらの基質特異性は、正確に決定されていない。

【0004】

【非特許文献1】

Dechant, G. & Barde, Y. A., Nat Neurosci.
5, 1131-1136 (2002)

【非特許文献2】

Yamashita, T., Tucker, K. L. & Barde, Y. A.,
Neuron 24, 585-593 (1999)

【非特許文献3】

Davies, A. M., Curr. Biol. 10, R198-200 (2000)

【非特許文献4】

Schmidt, A. & Hall, A., Genes Dev. 16, 1587-1609 (2002)

【非特許文献5】

Yamashita, T., Higuchi, H. & Tohyama, M.,
J. Cell Biol. 157, 565-570 (2002)

【非特許文献6】

Wang, K. C. & Kim, J. A., Sivasankaran, R.,
Segal, R. & He, Z., Nature 420, 74-78 (2002)

【非特許文献7】

Wong, S. T. et. al., Nat Neurosci. 5, 1302-1308 (2002)

【非特許文献8】

Sasaki, T. & Takai, Y., Biochem Biophys Res Commun. 245, 641-645 (1998)

【0005】

【発明が解決しようとする課題】

以上にかんがみて、本発明は、神経突起伸展の阻害に関連する p75^{NTR}と

その相互作用因子との関係を明らかにすることによって、神経の再生を導き、さらにはその神経の再生に基づいて神経学的疾患を処置することを課題とする。

【0006】

【課題を解決するための手段】

上記課題は、一部、本発明者らが、p75を介したシグナル伝達経路の全容を解明したことに基づいて解決された。

【0007】

本発明者らは、p75 NTRによるRh o活性の正確な調節機構を報告する。興味深いことに、p75 NTRは、Rh o GDI α からRh o AのGDP結合形態を外す活性を示す。p75 NTRと特異的に会合することが示されたペプチド (Pep5) は、p75 NTRによって媒介されるシグナルを効率的に阻害する。このペプチドは、ミエリン由来インヒビターによって誘発される成長阻害を反転させる際の有用な治療剤であり得る。

【0008】

ニューロトロフィンレセプターp75 NTRは、ニューロトロフィンならびにいくつかのミエリン成分 (ミエリン結合糖タンパク質、Nog oおよび稀突起神経膠細胞ミエリン糖タンパク質を含む) による軸索伸長の調節に参与する。ニューロトロフィンは、Rh o活性を阻害することによって神経突起伸展を刺激し、一方、ミエリン由来タンパク質は、Rh o Aを活性化し、これらの両方ともが、p75 NTR依存性機構を介する。ここで、本発明者らは、Rh o GDP解離抑制タンパク質とp75 NTRとの直接的な相互作用が、Rh o Aの活性化を開始することを示す。p75 NTRとRh o GDIとの相互作用は、ミエリン結合タンパク質またはNog oによって強化される。p75 NTRは、Rh o GDP解離抑制タンパク質からのプレニル化Rh o Aの離脱を促進する。p75 NTRの6個の α -ヘリックスのうちの5番目と会合することが示されたペプチドリガンドは、Rh o GDP解離抑制タンパク質とp75 NTRとの間の相互作用を阻害し、従ってp75 NTRによって媒介される作用をサイレンシングする。このペプチドは、中枢神経系の再生欠如の一因となる阻害合図に対する治療剤としての可能性を有する。従って、p75 NTRとRh o GDIとの間の相互

作用を破壊する因子は、中枢神経系の再生欠如の一因となる阻害合図に対する治療剤としての可能性、すなわち脊髄損傷、アルツハイマー病、脳梗塞、脳出血、脳外傷などの治療剤としての可能性を有する。

【0009】

従って、本発明は、以下を提供する。

【0010】

(1) 神経を再生するための方法であって、p 7 5 シグナル伝達経路を阻害する工程を含む、方法。

【0011】

(2) 上記 p 7 5 シグナル伝達経路は、神経再生が所望される部位における神経細胞のものである、項目 1 に記載の方法。

【0012】

(3) 上記 p 7 5 シグナル伝達経路の阻害は、p 7 5 シグナル伝達経路における伝達因子もしくはその改変体もしくはフラグメント、または p 7 5 シグナル伝達経路における伝達因子に対して特異的に相互作用する因子を再生に有効な量で提供することによる、項目 1 に記載の方法。

【0013】

(4) 上記 p 7 5 シグナル伝達経路における伝達因子は、MAG、G T 1 b、p 7 5、R h o G D I、R h o、p 2 1 および R h o キナーゼからなる群より選択される少なくとも 1 つの伝達因子を含む、項目 3 に記載の方法。

【0014】

(5) 上記 p 7 5 シグナル伝達経路の阻害は、MAG と G T 1 b との相互作用の阻害、G T 1 b と p 7 5 との相互作用の阻害、p 7 5 と R h o との相互作用の阻害、p 7 5 と R h o G D I との相互作用の阻害、R h o と R h o G D I との相互作用の維持または強化、R h o G D P から R h o G T P への変換阻害、R h o と R h o キナーゼとの相互作用の阻害および R h o キナーゼの活性阻害からなる群より選択される、項目 1 に記載の方法。

【0015】

(6) 上記 p 7 5 シグナル伝達経路の阻害は、MAG と G T 1 b との相互作

用を抑制または消失する因子、G T 1 b と p 7 5 との相互作用を抑制または消失する因子、p 7 5 と R h o G D I との相互作用を抑制または消失する因子、p 7 5 と R h o との相互作用を抑制または消失する因子、R h o と R h o G D I との相互作用を維持または強化する因子、R h o G D P から R h o G T P への変換を阻害する因子、R h o と R h o キナーゼとの相互作用を阻害する因子、および R h o キナーゼの活性を阻害する因子からなる群より選択される少なくとも 1 つの因子を再生に有効な量で提供することによる、項目 1 に記載の方法。

【0016】

(7) 上記神経の再生は、インビボまたはインビトロで行われる、項目 1 に記載の方法。

【0017】

(8) 上記神経は、脊髄損傷、脳血管障害または脳外傷を含む状態にある、項目 1 に記載の方法。

【0018】

(9) 上記 p 7 5 シグナル伝達経路を阻害する工程は、再生に有効な量の、P e p 5 ポリペプチド、P e p 5 ポリペプチドをコードする核酸分子、p 7 5 ポリペプチドに対して特異的に相互作用する因子、p 7 5 ポリペプチドをコードする核酸分子に対して特異的に相互作用する因子、p 7 5 細胞外ドメインポリペプチド、p 7 5 細胞外ドメインポリペプチドをコードする核酸分子、R h o G D I ポリペプチドに対して特異的に相互作用する因子、R h o G D I ポリペプチドをコードする核酸分子に対して特異的に相互作用する因子、R h o G D I ポリペプチド、R h o G D I ポリペプチドをコードする核酸分子、M A G ポリペプチドに対して特異的に相互作用する因子、M A G ポリペプチドをコードする核酸分子に対して特異的に相互作用する因子、p 2 1 ポリペプチド、p 2 1 をコードする核酸分子、R h o ポリペプチドに対して特異的に相互作用する因子、R h o ポリペプチドをコードする核酸分子に対して特異的に相互作用する因子、R h o キナーゼに対して特異的に相互作用する因子および R h o キナーゼをコードする核酸分子に対して特異的に相互作用する因子ならびにその改変体およびフラグメントからなる群より選択される少なくとも 1 つの分子を含む組成物を上記神経

に与える工程、
を包含する、項目 1 に記載の方法。

【0019】

(10) 上記因子は、PTDドメインに結合する、項目 4 に記載の方法。

【0020】

(11) 神経疾患、神経障害および／または神経の状態を、処置、予防、診断または予後する方法であって、上記処置、予防、診断または予後を必要とするかまたはそのことが予想される被検体において p 75 シグナル伝達経路を調節する工程を包含する、方法。

【0021】

(12) 上記 p 75 シグナル伝達経路を調節する工程は、p 75 シグナル伝達経路における伝達因子もしくはその改変体もしくはフラグメント、または p 75 シグナル伝達経路における伝達因子に対して特異的に相互作用する因子を再生に有効な量で、上記処置、予防、診断または予後を必要とするかまたはそのことが予想される被検体に投与する工程を包含する、項目 11 に記載の方法。

【0022】

(13) 上記 p 75 シグナル伝達経路における伝達因子は、MAG、GT1b、p 75、Rho GDI、Rho、p 21 および Rho キナーゼからなる群より選択される少なくとも 1 つの伝達因子を含む、項目 11 に記載の方法。

【0023】

(14) 上記 p 75 シグナル伝達経路の調節は、上記処置、予防、診断または予後を必要とするかまたはそのことが予想される被検体における、MAG と GT1b との相互作用の阻害、GT1b と p 75 との相互作用の阻害、p 75 と Rho との相互作用の阻害、p 75 と Rho GDI との相互作用の阻害、Rho と Rho GDI との相互作用の維持または強化、Rho GDP から Rho GTP への変換阻害、Rho と Rho キナーゼとの相互作用の阻害および Rho キナーゼの活性阻害からなる群より選択される調節を少なくとも 1 つ包含する、項目 11 に記載の方法。

【0024】

(15) 上記 p 7 5 シグナル伝達経路の調節は、MAG と G T 1 b との相互作用を抑制または消失する因子、G T 1 b と p 7 5 との相互作用を抑制または消失する因子、p 7 5 と R h o G D I との相互作用を抑制または消失する因子、p 7 5 と R h o との相互作用を抑制または消失する因子、R h o と R h o G D I との相互作用を維持または強化する因子、R h o G D P から R h o G T P への変換を阻害する因子、R h o と R h o キナーゼとの相互作用を阻害する因子、および R h o キナーゼの活性を阻害する因子からなる群より選択される少なくとも 1 つの因子を再生に有効な量で、上記処置、予防、診断または予後を必要とするかまたはそのことが予想される被検体に投与する工程を包含する、項目 1 1 に記載の方法。

【0025】

(16) 上記神経の再生は、インビボまたはインビトロで行われる、項目 1 1 に記載の方法。

【0026】

(17) 上記神経は、脊髄損傷、脳血管障害または脳外傷を含む状態にある、項目 1 1 に記載の方法。

【0027】

(18) 上記 p 7 5 シグナル伝達経路を調節する工程は、診断、予防、処置または予後に有効な量の P e p 5 ポリペプチド、P e p 5 ポリペプチドをコードする核酸分子、p 7 5 ポリペプチドに対して特異的に相互作用する因子、p 7 5 ポリペプチドをコードする核酸分子に対して特異的に相互作用する因子、p 7 5 細胞外ドメインポリペプチド、p 7 5 細胞外ドメインポリペプチドをコードする核酸分子、R h o G D I ポリペプチドに対して特異的に相互作用する因子、R h o G D I ポリペプチドをコードする核酸分子に対して特異的に相互作用する因子、R h o G D I ポリペプチド、R h o G D I ポリペプチドをコードする核酸分子、MAG ポリペプチドに対して特異的に相互作用する因子、MAG ポリペプチドをコードする核酸分子に対して特異的に相互作用する因子、p 2 1 ポリペプチド、p 2 1 をコードする核酸分子、R h o ポリペプチドに対して特異的に相互作用する因子、R h o ポリペプチドをコードする核酸分子に対して特異的に

相互作用する因子、R h o キナーゼに対して特異的に相互作用する因子および R h o キナーゼをコードする核酸分子に対して特異的に相互作用する因子ならびにその改変体およびフラグメントからなる群より選択される少なくとも 1 つの分子を含む組成物を上記神経に与える工程、
を包含する、項目 11 に記載の方法。

【0028】

(19) さらに、1 以上の薬剤を提供する工程を包含する、項目 11 に記載の方法。

【0029】

(20) 上記因子は、P T D ドメインに結合する、項目 13 に記載の方法。

【0030】

(21) p 7 5 シグナル伝達経路を阻害する因子を含む、神経を再生するための組成物。

【0031】

(22) 上記 p 7 5 シグナル伝達経路を阻害する因子は、神経再生が所望される部位における神経細胞に送達されるのに適切な形態である、項目 21 に記載の組成物。

【0032】

(23) 上記 p 7 5 シグナル伝達経路を阻害する因子は、p 7 5 シグナル伝達経路における伝達因子もしくはその改変体もしくはフラグメント、または p 7 5 シグナル伝達経路における伝達因子に対して特異的に相互作用する因子を含む、項目 21 に記載の組成物。

【0033】

(24) 上記 p 7 5 シグナル伝達経路における伝達因子は、M A G、G T 1 b、p 7 5、R h o G D I、R h o、p 2 1 および R h o キナーゼからなる群より選択される少なくとも 1 つの伝達因子を含む、項目 23 に記載の組成物。

【0034】

(25) 上記 p 7 5 シグナル伝達経路を阻害する因子は、M A G と G T 1 b との相互作用の阻害、G T 1 b と p 7 5 との相互作用の阻害、p 7 5 と R h o と

の相互作用の阻害、p 7 5 と R h o G D I との相互作用の阻害、R h o と R h o G D I との相互作用の維持または強化、R h o G D P から R h o G T P への変換阻害、R h o と R h o キナーゼとの相互作用の阻害および R h o キナーゼの活性阻害からなる群より選択される少なくとも 1 つの作用を有する、項目 2 1 に記載の組成物。

【0035】

(26) 上記 p 7 5 シグナル伝達経路を阻害する因子は、M A G と G T 1 b との相互作用を抑制または消失する因子、G T 1 b と p 7 5 との相互作用を抑制または消失する因子、p 7 5 と R h o G D I との相互作用を抑制または消失する因子、p 7 5 と R h o との相互作用を抑制または消失する因子、R h o と R h o G D I との相互作用を維持または強化する因子、R h o G D P から R h o G T P への変換を阻害する因子、R h o と R h o キナーゼとの相互作用を阻害する因子、および R h o キナーゼの活性を阻害する因子からなる群より選択される少なくとも 1 つの因子を含み、上記 p 7 5 シグナル伝達経路を阻害する因子は、再生に有効な量で存在する、項目 2 1 に記載の組成物。

【0036】

(27) インビボまたはインビトロでの投与形態に適切である、項目 2 1 に記載の組成物。

【0037】

(28) 上記神経は、脊髄損傷、脳血管障害または脳外傷を含む状態にある、項目 2 1 に記載の組成物。

【0038】

(29) 上記 p 7 5 シグナル伝達経路を阻害する因子は、P e p 5 ポリペプチド、P e p 5 ポリペプチドをコードする核酸分子、p 7 5 ポリペプチドに対して特異的に相互作用する因子、p 7 5 ポリペプチドをコードする核酸分子に対して特異的に相互作用する因子、p 7 5 細胞外ドメインポリペプチド、p 7 5 細胞外ドメインポリペプチドをコードする核酸分子、R h o G D I ポリペプチドに対して特異的に相互作用する因子、R h o G D I ポリペプチドをコードする核酸分子に対して特異的に相互作用する因子、R h o G D I ポリペプチド、R h

o GDI ポリペプチドをコードする核酸分子、MAG ポリペプチドに対して特異的に相互作用する因子、MAG ポリペプチドをコードする核酸分子に対して特異的に相互作用する因子、p21 ポリペプチド、p21 をコードする核酸分子、Rho ポリペプチドに対して特異的に相互作用する因子、Rho ポリペプチドをコードする核酸分子に対して特異的に相互作用する因子、Rho キナーゼに対して特異的に相互作用する因子および Rho キナーゼをコードする核酸分子に対して特異的に相互作用する因子ならびにその改変体およびフラグメントからなる群より選択される少なくとも 1 つの分子を含む、項目 21 に記載の組成物。

【0039】

(30) 上記因子は、PTD ドメインに結合する、項目 21 に記載の組成物

。

【0040】

(31) 神経疾患、神経障害および／または神経の状態を、処置、予防、診断または予後するための組成物であって、p75 シグナル伝達経路を調節する因子を含む、組成物。

【0041】

(32) 上記 p75 シグナル伝達経路を調節する因子は、p75 シグナル伝達経路における伝達因子もしくはその改変体もしくはフラグメント、または p75 シグナル伝達経路における伝達因子に対して特異的に相互作用する因子を含む、項目 31 に記載の組成物。

【0042】

(33) 上記 p75 シグナル伝達経路における伝達因子は、MAG、GT1b、p75、Rho GDI、Rho、p21 および Rho キナーゼからなる群より選択される少なくとも 1 つの伝達因子を含む、項目 31 に記載の組成物。

【0043】

(34) 上記 p75 シグナル伝達経路の調節は、MAG と GT1b との相互作用の阻害、GT1b と p75 との相互作用の阻害、p75 と Rho との相互作用の阻害、p75 と Rho GDI との相互作用の阻害、Rho と Rho GDI との相互作用の維持または強化、Rho GDP から Rho GTP への変換阻害

、R h o と R h o キナーゼとの相互作用の阻害および R h o キナーゼの活性阻害からなる群より選択される、項目 3 1 に記載の組成物。

【0044】

(35) 上記 p 7 5 シグナル伝達経路を調節する因子は、M A G と G T 1 b との相互作用を抑制または消失する因子、G T 1 b と p 7 5 との相互作用を抑制または消失する因子、p 7 5 と R h o G D I との相互作用を抑制または消失する因子、p 7 5 と R h o との相互作用を抑制または消失する因子、R h o と R h o G D I との相互作用を維持または強化する因子、R h o G D P から R h o G T P への変換を阻害する因子、R h o と R h o キナーゼとの相互作用を阻害する因子、および R h o キナーゼの活性を阻害する因子からなる群より選択される少なくとも 1 つの因子を含む、項目 3 1 に記載の組成物。

【0045】

(36) 経口または非経口での投与に適した形態である、項目 3 1 に記載の組成物。

【0046】

(37) 上記神経は、脊髄損傷、脳血管障害または脳外傷を含む状態にある、項目 3 1 に記載の組成物。

【0047】

(38) 上記 p 7 5 シグナル伝達経路を調節する因子は、P e p 5 ポリペプチド、P e p 5 ポリペプチドをコードする核酸分子、p 7 5 ポリペプチドに対して特異的に相互作用する因子、p 7 5 ポリペプチドをコードする核酸分子に対して特異的に相互作用する因子、p 7 5 細胞外ドメインポリペプチド、p 7 5 細胞外ドメインポリペプチドをコードする核酸分子、R h o G D I ポリペプチドに対して特異的に相互作用する因子、R h o G D I ポリペプチドをコードする核酸分子に対して特異的に相互作用する因子、R h o G D I ポリペプチド、R h o G D I ポリペプチドをコードする核酸分子、M A G ポリペプチドに対して特異的に相互作用する因子、M A G ポリペプチドをコードする核酸分子に対して特異的に相互作用する因子、p 2 1 ポリペプチド、p 2 1 をコードする核酸分子、R h o ポリペプチドに対して特異的に相互作用する因子、R h o ポリペプチドを

コードする核酸分子に対して特異的に相互作用する因子、R h o キナーゼに対して特異的に相互作用する因子および R h o キナーゼをコードする核酸分子に対して特異的に相互作用する因子ならびにその改変体およびフラグメントからなる群より選択される少なくとも 1 つの分子を含む、項目 31 に記載の組成物。

【0048】

(39) さらに、1 以上の薬剤を含む、項目 31 に記載の組成物。

【0049】

(40) 上記因子は、P T D ドメインに結合する、項目 31 に記載の組成物

。

【0050】

(41) 神経を再生するための組成物であって、P e p 5 ポリペプチドを含む、組成物。

【0051】

(42) 上記 P e p 5 ポリペプチドは、

(a) 配列番号 1 に記載の核酸配列もしくはそのフラグメントによってコードされる、ポリペプチド；

(b) 配列番号 2 に記載のアミノ酸配列もしくはそのフラグメントを有する、ポリペプチド；

(c) 配列番号 2 に記載のアミノ酸配列において、1 以上のアミノ酸が、置換、付加および欠失からなる群より選択される少なくとも 1 つの変異を有する改変体ポリペプチドであって、生物学的活性を有する、改変体ポリペプチド；または

(d) (a) ~ (c) のいずれか 1 つのポリペプチドのアミノ酸配列に対する同一性が少なくとも 70 % であるアミノ酸配列からなり、かつ、生物学的活性を有する、ポリペプチド、を含む、項目 41 に記載の組成物。

【0052】

(43) 上記 P e p 5 ポリペプチドは、配列番号 2 のアミノ酸配列の全範囲を含む、項目 41 に記載の組成物。

【0053】

(44) 上記神経は、脊髄損傷、脳血管障害または脳外傷を含む状態にある、項目41に記載の組成物。

【0054】

(45) 上記Pep5ポリペプチドは、さらに、PTDドメインを含む、項目41に記載の組成物。

【0055】

(46) 神経を再生するための組成物であって、Pep5ポリペプチドをコードする核酸分子を含む、組成物。

【0056】

(47) 上記Pep5ポリペプチドをコードする核酸分子は、

(a) 配列番号1に記載の塩基配列またはそのフラグメント配列を有する、ポリヌクレオチド；

(b) 配列番号2に記載のアミノ酸配列またはそのフラグメントをコードする、ポリヌクレオチド、

(c) 配列番号2に記載のアミノ酸配列において、1以上のアミノ酸が、置換、付加および欠失からなる群より選択される少なくとも1つの変異を有する改変体ポリペプチドであって、生物学的活性を有する改変体ポリペプチドをコードする、ポリヌクレオチド；；

(d) (a)～(c)のいずれか1つのポリヌクレオチドにストリンジェントな条件下でハイブリダイズし、かつ生物学的活性を有するポリペプチドをコードするポリヌクレオチド；または

(e) (a)～(c)のいずれか1つのポリヌクレオチドまたはその相補配列に対する同一性が少なくとも70%である塩基配列からなり、かつ、生物学的活性を有するポリペプチドをコードするポリヌクレオチド、を含む、項目46に記載の組成物。

【0057】

(48) 上記Pep5ポリペプチドをコードする核酸分子は、配列番号1の核酸配列におけるヌクレオチド配列の全範囲を含む、項目46に記載の組成物。

【0058】

(49) 上記神経は、脊髄損傷、脳血管障害または脳外傷を含む状態にある、項目46に記載の組成物。

【0059】

(50) 上記Pep5ポリペプチドをコードする核酸分子は、PTDドメインをコードする配列を含む、項目41に記載の組成物。

【0060】

(51) 神経を再生するための組成物であって、p75ポリペプチドに対して特異的に相互作用する因子を含む、組成物。

【0061】

(52) 上記p75ポリペプチドは、

(a) 配列番号3または16に記載の核酸配列のヌクレオチドもしくはそのフラグメントによってコードされる、ポリペプチド；

(b) 配列番号4または17に記載のアミノ酸配列のアミノ酸もしくはそのフラグメントを有する、ポリペプチド；

(c) 配列番号4または17に記載のアミノ酸配列のアミノ酸において、1以上のアミノ酸が、置換、付加および欠失からなる群より選択される少なくとも1つの変異を有する改変体ポリペプチドであって、生物学的活性を有する、改変体ポリペプチド

(d) 配列番号3または16に記載の塩基配列のヌクレオチドのスプライス改変体もしくは対立遺伝子改変体によってコードされる、ポリペプチド；

(e) 配列番号4または17に記載のアミノ酸配列のアミノ酸を有するポリペプチドの、種相同体ポリペプチド；または

(f) (a)～(e)のいずれか1つのポリペプチドのアミノ酸配列に対する同一性が少なくとも70%であるアミノ酸配列からなり、かつ、生物学的活性を有する、ポリペプチド、
を含む、項目51に記載の組成物。

【0062】

(53) 上記p75ポリペプチドは、配列番号4または17のアミノ酸配列

のうち、それぞれ 273 位～427 位または 274 位～425 位の範囲を含む、項目 51 に記載の組成物。

【0063】

(54) 上記神経は、脊髄損傷、脳血管障害または脳外傷を含む状態にある、項目 51 に記載の組成物。

【0064】

(55) 上記因子は、抗体を含む、項目 51 に記載の組成物。

【0065】

(56) 神経を再生するための組成物であって、p75 ポリペプチドをコードする核酸分子に対して特異的に相互作用する因子を含む、組成物。

【0066】

(57) 上記 p75 ポリペプチドをコードする核酸分子は、

(a) 配列番号 3 または 16 に記載の塩基配列のヌクレオチドまたはそのフラグメント配列を有する、ポリヌクレオチド；

(b) 配列番号 4 または 17 に記載のアミノ酸配列のアミノ酸またはそのフラグメントをコードする、ポリヌクレオチド、

(c) 配列番号 4 または 17 に記載のアミノ酸配列のアミノ酸において、1 以上のアミノ酸が、置換、付加および欠失からなる群より選択される少なくとも 1 つの変異を有する改変体ポリペプチドであって、生物学的活性を有する改変体ポリペプチドをコードする、ポリヌクレオチド；

(d) 配列番号 3 または 16 に記載の塩基配列のヌクレオチドのスプライス変異体または対立遺伝子変異体である、ポリヌクレオチド；

(e) 配列番号 4 または 17 に記載のアミノ酸配列のアミノ酸からなるポリペプチドの種相同体をコードする、ポリヌクレオチド；

(f) (a) ～ (e) のいずれか 1 つのポリヌクレオチドにストリンジェントな条件下でハイブリダイズし、かつ生物学的活性を有するポリペプチドをコードするポリヌクレオチド；または

(g) (a) ～ (e) のいずれか 1 つのポリヌクレオチドまたはその相補配列に対する同一性が少なくとも 70 % である塩基配列からなり、かつ、生物学

的活性を有するポリペプチドをコードするポリヌクレオチド、
からなる群より選択される、ポリヌクレオチド、
を含む、項目 5 6 に記載の組成物。

【0 0 6 7】

(5 8) 上記 p 7 5 ポリペプチドをコードする核酸分子は、配列番号 3 または 1 6 の核酸配列において、それぞれヌクレオチド 1 1 1 0 位～1 2 8 3 位または 1 1 1 3 位～1 2 7 7 位の範囲を含む、項目 5 6 に記載の組成物。

【0 0 6 8】

(5 9) 上記神経は、脊髄損傷、脳血管障害または脳外傷を含む状態にある、項目 5 6 に記載の組成物。

【0 0 6 9】

(6 0) 上記因子は、p 7 5 ポリペプチドをコードする核酸分子のアンチセンスまたは RNA i である、項目 5 6 に記載の組成物。

【0 0 7 0】

(6 1) 神経を再生するための組成物であって、p 7 5 細胞外ドメインポリペプチドを含む、組成物。

【0 0 7 1】

(6 2) 上記 p 7 5 細胞外ドメインは、

(a) 配列番号 3 または 1 6 に記載の核酸配列の、それぞれヌクレオチド 1 9 8 位～8 6 3 位または 2 0 1 位～8 6 6 位もしくはそのフラグメントによってコードされる、ポリペプチド；

(b) 配列番号 4 または 1 7 に記載のアミノ酸配列の、それぞれアミノ酸 2 9 位～2 5 0 位または 3 0 位～2 5 1 位もしくはそのフラグメントを有する、ポリペプチド；

(c) 配列番号 4 または 1 7 に記載のアミノ酸配列、それぞれアミノ酸 2 9 位～2 5 0 位または 3 0 位～2 5 1 位において、1 以上のアミノ酸が、置換、付加および欠失からなる群より選択される少なくとも 1 つの変異を有する改変体ポリペプチドであって、生物学的活性を有する、改変体ポリペプチド

(d) 配列番号 3 または 1 6 に記載の塩基配列の、それぞれヌクレオチド

198位～863位または201位～866位のスプライス改変体もしくは対立遺伝子改変体の配列によってコードされる、ポリペプチド；

(e) 配列番号4または17に記載のアミノ酸配列の、それぞれアミノ酸29位～250位または30位～251位を有するポリペプチドの、種相同体ポリペプチド；または

(f) (a)～(e)のいずれか1つのポリペプチドのアミノ酸配列に対する同一性が少なくとも70%であるアミノ酸配列からなり、かつ、生物学的活性を有する、ポリペプチド、
を含む、項目61に記載の組成物。

【0072】

(63) 上記p75細胞外ドメインポリペプチドは、配列番号4または17のアミノ酸配列において、それぞれアミノ酸29位～250位または30位～251位の範囲を含む、項目61に記載の組成物。

【0073】

(64) 上記神経は、脊髄損傷、脳血管障害または脳外傷を含む状態にある、項目61に記載の組成物。

【0074】

(65) 上記p75細胞外ドメインポリペプチドは、可溶性である、項目61に記載の組成物。

【0075】

(66) 神経を再生するための組成物であって、p75細胞外ドメインポリペプチドをコードする核酸分子を含む、組成物。

【0076】

(67) 上記p75細胞外ドメインポリペプチドをコードする核酸分子は、

(a) 配列番号3または16に記載の塩基配列の、それぞれヌクレオチド198位～863位または201位～866位またはそのフラグメント配列を有する、ポリヌクレオチド；

(b) 配列番号4または17に記載のアミノ酸配列の、それぞれアミノ酸29位～250位または30位～251位またはそのフラグメントをコードする

、ポリヌクレオチド、

(c) 配列番号 4 または 17 に記載のアミノ酸配列の、それぞれアミノ酸 29 位～250 位または 30 位～251 位において、1 以上のアミノ酸が、置換、付加および欠失からなる群より選択される少なくとも 1 つの変異を有する改変体ポリペプチドであって、生物学的活性を有する改変体ポリペプチドをコードする、ポリヌクレオチド；

(d) 配列番号 3 または 16 に記載の塩基配列の、それぞれヌクレオチド 198 位～863 位または 201 位～866 位のスプライス変異体または対立遺伝子変異体である、ポリヌクレオチド；

(e) 配列番号 4 または 17 に記載のアミノ酸配列、それぞれアミノ酸 29 位～250 位または 30 位～251 位からなるポリペプチドの種相同体をコードする、ポリヌクレオチド；

(f) (a) ～ (e) のいずれか 1 つのポリヌクレオチドにストリンジェントな条件下でハイブリダイズし、かつ生物学的活性を有するポリペプチドをコードするポリヌクレオチド；または

(g) (a) ～ (e) のいずれか 1 つのポリヌクレオチドまたはその相補配列に対する同一性が少なくとも 70 % である塩基配列からなり、かつ、生物学的活性を有するポリペプチドをコードするポリヌクレオチド、からなる群より選択される、ポリヌクレオチド、を含む、項目 66 に記載の組成物。

【0077】

(68) 上記 p 75 細胞外ドメインポリペプチドをコードする核酸分子は、配列番号 3 または 16 の核酸配列において、それぞれヌクレオチド 198 位～863 位または 201 位～866 位の範囲を含む、項目 66 に記載の組成物。

【0078】

(69) 上記神経は、脊髄損傷、脳血管障害または脳外傷を含む状態にある、項目 66 に記載の組成物。

【0079】

(70) 上記 p 75 細胞外ドメインポリペプチドは、可溶性である、項目 6

6に記載の組成物。

【0080】

(71) 神経を再生するための組成物であって、Rho GDIポリペプチドに対して特異的に相互作用する因子を含む、組成物。

【0081】

(72) 上記Rho GDIポリペプチドは、

(a) 配列番号5に記載の核酸配列のヌクレオチドもしくはそのフラグメントによってコードされる、ポリペプチド；

(b) 配列番号6に記載のアミノ酸配列のアミノ酸もしくはそのフラグメントを有する、ポリペプチド；

(c) 配列番号6に記載のアミノ酸配列のアミノ酸において、1以上のアミノ酸が、置換、付加および欠失からなる群より選択される少なくとも1つの変異を有する改変体ポリペプチドであって、生物学的活性を有する、改変体ポリペプチド

(d) 配列番号5に記載の塩基配列のヌクレオチドのスプライス改変体もしくは対立遺伝子改変体によってコードされる、ポリペプチド；

(e) 配列番号6に記載のアミノ酸配列のアミノ酸を有するポリペプチドの、種相同体ポリペプチド；または

(f) (a)～(e)のいずれか1つのポリペプチドのアミノ酸配列に対する同一性が少なくとも70%であるアミノ酸配列からなり、かつ、生物学的活性を有する、ポリペプチド、
を含む、項目71に記載の組成物。

【0082】

(73) 上記Rho GDIポリペプチドは、配列番号6のアミノ酸配列の全範囲を含む、項目71に記載の組成物。

【0083】

(74) 上記神経は、脊髄損傷、脳血管障害または脳外傷を含む状態にある、項目71に記載の組成物。

【0084】

(75) 上記因子は、抗体を含む、項目 7 1 に記載の組成物。

【0085】

(76) 神経を再生するための組成物であって、R h o G D I ポリペプチドをコードする核酸分子に対して特異的に相互作用する因子を含む、組成物。

【0086】

(77) 上記 R h o G D I ポリペプチドをコードする核酸分子は、

(a) 配列番号 5 に記載の塩基配列のヌクレオチドまたはそのフラグメント配列を有する、ポリヌクレオチド；

(b) 配列番号 6 に記載のアミノ酸配列のアミノ酸またはそのフラグメントをコードする、ポリヌクレオチド、

(c) 配列番号 6 に記載のアミノ酸配列のアミノ酸において、1 以上のアミノ酸が、置換、付加および欠失からなる群より選択される少なくとも 1 つの変異を有する改変体ポリペプチドであって、生物学的活性を有する改変体ポリペプチドをコードする、ポリヌクレオチド；

(d) 配列番号 5 に記載の塩基配列のヌクレオチドのスプライス変異体または対立遺伝子変異体である、ポリヌクレオチド；

(e) 配列番号 6 に記載のアミノ酸配列のアミノ酸からなるポリペプチドの種相同体をコードする、ポリヌクレオチド；

(f) (a) ~ (e) のいずれか 1 つのポリヌクレオチドにストリンジェントな条件下でハイブリダイズし、かつ生物学的活性を有するポリペプチドをコードするポリヌクレオチド；または

(g) (a) ~ (e) のいずれか 1 つのポリヌクレオチドまたはその相補配列に対する同一性が少なくとも 7 0 % である塩基配列からなり、かつ、生物学的活性を有するポリペプチドをコードするポリヌクレオチド、からなる群より選択される、ポリヌクレオチド、を含む、項目 7 6 に記載の組成物。

【0087】

(78) 上記 R h o G D I は、配列番号 5 の核酸配列の全範囲を含む、項目 7 6 に記載の組成物。

【0088】

(79) 上記神経は、脊髄損傷、脳血管障害または脳外傷を含む状態にある、項目76に記載の組成物。

【0089】

(80) 上記因子は、アンチセンス分子またはRNA iを含む、項目76に記載の組成物。

【0090】

(81) 神経を再生するための組成物であって、MAGポリペプチドに対して特異的に相互作用する因子を含む、組成物。

【0091】

(82) 上記MAGポリペプチドは、

(a) 配列番号7に記載の核酸配列もしくはそのフラグメントによってコードされる、ポリペプチド；

(b) 配列番号8に記載のアミノ酸配列もしくはそのフラグメントを有する、ポリペプチド；

(c) 配列番号8に記載のアミノ酸配列において、1以上のアミノ酸が、置換、付加および欠失からなる群より選択される少なくとも1つの変異を有する改変体ポリペプチドであって、生物学的活性を有する、改変体ポリペプチド

(d) 配列番号7に記載の塩基配列のスプライス改変体もしくは対立遺伝子改変体によってコードされる、ポリペプチド；

(e) 配列番号8に記載のアミノ酸配列を有するポリペプチドの、種相同体ポリペプチド；または

(f) (a) ~ (e) のいずれか1つのポリペプチドのアミノ酸配列に対する同一性が少なくとも70%であるアミノ酸配列からなり、かつ、生物学的活性を有する、ポリペプチド、
を含む、項目81に記載の組成物。

【0092】

(83) 上記MAGポリペプチドは、配列番号8のアミノ酸配列の1位~626位を含む、項目81に記載の組成物。

【0093】

(84) 上記神経は、脊髄損傷、脳血管障害または脳外傷を含む状態にある、項目 81 に記載の組成物。

【0094】

(85) 上記因子は、抗体を含む、項目 81 に記載の組成物。

【0095】

(86) 神経を再生するための組成物であって、MAG ポリペプチドをコードする核酸分子に対して特異的に相互作用する因子を含む、組成物。

【0096】

(87) 上記MAGポリペプチドをコードする核酸分子は、

(a) 配列番号7に記載の塩基配列のヌクレオチドまたはそのフラグメント配列を有する、ポリヌクレオチド；

(b) 配列番号8に記載のアミノ酸配列のアミノ酸またはそのフラグメントをコードする、ポリヌクレオチド、

(c) 配列番号8に記載のアミノ酸配列のアミノ酸において、1以上のアミノ酸が、置換、付加および欠失からなる群より選択される少なくとも1つの変異を有する改変体ポリペプチドであって、生物学的活性を有する改変体ポリペプチドをコードする、ポリヌクレオチド；

(d) 配列番号7に記載の塩基配列のヌクレオチドのスプライス変異体または対立遺伝子変異体である、ポリヌクレオチド；

(e) 配列番号8に記載のアミノ酸配列のアミノ酸からなるポリペプチドの種相同体をコードする、ポリヌクレオチド；

(f) (a) ~ (e) のいずれか1つのポリヌクレオチドにストリンジェントな条件下でハイブリダイズし、かつ生物学的活性を有するポリペプチドをコードするポリヌクレオチド；または

(g) (a) ~ (e) のいずれか1つのポリヌクレオチドまたはその相補配列に対する同一性が少なくとも70%である塩基配列からなり、かつ、生物学的活性を有するポリペプチドをコードするポリヌクレオチド、からなる群より選択される、ポリヌクレオチド、

を含む、項目 8 6 に記載の組成物。

【0 0 9 7】

(8 8) 上記 M A G ポリペプチドをコードする核酸分子は、配列番号 7 の核酸配列において、1 位～2 4 7 5 位の範囲を含む、項目 8 6 に記載の組成物。

【0 0 9 8】

(8 9) 上記神経は、脊髄損傷、脳血管障害または脳外傷を含む状態にある、項目 8 6 に記載の組成物。

【0 0 9 9】

(9 0) 上記因子は、M A G ポリペプチドをコードする核酸分子のアンチセンスまたは R N A i である、項目 8 6 に記載の組成物。

【0 1 0 0】

(9 1) 神経を再生するための組成物であって、R h o ポリペプチドに対して特異的に相互作用する因子を含む、組成物。

【0 1 0 1】

(9 2) 上記 R h o ポリペプチドは、

(a) 配列番号 1 1 に記載の核酸配列のヌクレオチドもしくはそのフラグメントによってコードされる、ポリペプチド；

(b) 配列番号 1 2 に記載のアミノ酸配列のアミノ酸もしくはそのフラグメントを有する、ポリペプチド；

(c) 配列番号 1 2 に記載のアミノ酸配列のアミノ酸において、1 以上のアミノ酸が、置換、付加および欠失からなる群より選択される少なくとも 1 つの変異を有する改変体ポリペプチドであって、生物学的活性を有する、改変体ポリペプチド

(d) 配列番号 1 1 に記載の塩基配列のヌクレオチドのスプライス改変体もしくは対立遺伝子改変体によってコードされる、ポリペプチド；

(e) 配列番号 1 2 に記載のアミノ酸配列のアミノ酸を有するポリペプチドの、種相同体ポリペプチド；または

(f) (a) ～ (e) のいずれか 1 つのポリペプチドのアミノ酸配列に対する同一性が少なくとも 7 0 % であるアミノ酸配列からなり、かつ、生物学的活

性を有する、ポリペプチド、
を含む、項目 91 に記載の組成物。

【0102】

(93) 上記 R h o ポリペプチドは、配列番号 12 のアミノ酸の 1 位～19
3 位を含む、項目 91 に記載の組成物。

【0103】

(94) 上記神経は、脊髄損傷、脳血管障害または脳外傷を含む状態にある
、項目 91 に記載の組成物。

【0104】

(95) 上記因子は、抗体を含む、項目 91 に記載の組成物。

【0105】

(96) 神経を再生するための組成物であって、R h o ポリペプチドをコード
する核酸分子に対して特異的に相互作用する因子を含む、組成物。

【0106】

(97) 上記 R h o ポリペプチドをコードする核酸分子は、

(a) 配列番号 11 に記載の塩基配列のヌクレオチドまたはそのフラグメント配列を有する、ポリヌクレオチド；

(b) 配列番号 12 に記載のアミノ酸配列のアミノ酸またはそのフラグメントをコードする、ポリヌクレオチド、

(c) 配列番号 12 に記載のアミノ酸配列のアミノ酸において、1 以上のアミノ酸が、置換、付加および欠失からなる群より選択される少なくとも 1 つの変異を有する改変体ポリペプチドであって、生物学的活性を有する改変体ポリペプチドをコードする、ポリヌクレオチド；

(d) 配列番号 11 に記載の塩基配列のヌクレオチドのスプライス変異体または対立遺伝子変異体である、ポリヌクレオチド；

(e) 配列番号 12 に記載のアミノ酸配列のアミノ酸からなるポリペプチドの種相同体をコードする、ポリヌクレオチド；

(f) (a) ～ (e) のいずれか 1 つのポリヌクレオチドにストリンジェントな条件下でハイブリダイズし、かつ生物学的活性を有するポリペプチドをコ

ードするポリヌクレオチド；または

(g) (a) ~ (e) のいずれか 1 つのポリヌクレオチドまたはその相補配列に対する同一性が少なくとも 70 % である塩基配列からなり、かつ、生物学的活性を有するポリペプチドをコードするポリヌクレオチド、
からなる群より選択される、ポリヌクレオチド、
を含む、項目 96 に記載の組成物。

【0107】

(98) 上記 R h o ポリペプチドをコードする核酸分子は、配列番号 11 の 1 位 ~ 579 位を含む、項目 96 に記載の組成物。

【0108】

(99) 上記神経は、脊髄損傷、脳血管障害または脳外傷を含む状態にある、項目 96 に記載の組成物。

【0109】

(100) 上記因子は、アンチセンス分子または RNA i を含む、項目 96 に記載の組成物。

【0110】

(101) 神経を再生するための組成物であって、R h o キナーゼポリペプチドに対して特異的に相互作用する因子を含む、組成物。

【0111】

(102) 上記 R h o キナーゼポリペプチドは、

(a) 配列番号 18 に記載の核酸配列のヌクレオチドもしくはそのフラグメントによってコードされる、ポリペプチド；

(b) 配列番号 19 に記載のアミノ酸配列のアミノ酸もしくはそのフラグメントを有する、ポリペプチド；

(c) 配列番号 19 に記載のアミノ酸配列のアミノ酸において、1 以上のアミノ酸が、置換、付加および欠失からなる群より選択される少なくとも 1 つの変異を有する改変体ポリペプチドであって、生物学的活性を有する、改変体ポリペプチド

(d) 配列番号 18 に記載の塩基配列のヌクレオチドのスプライス改変体

もしくは対立遺伝子改変体によってコードされる、ポリペプチド；

(e) 配列番号 19 に記載のアミノ酸配列のアミノ酸を有するポリペプチドの、種相同体ポリペプチド；または

(f) (a) ～ (e) のいずれか 1 つのポリペプチドのアミノ酸配列に対する同一性が少なくとも 70 % であるアミノ酸配列からなり、かつ、生物学的活性を有する、ポリペプチド、

を含む、項目 101 に記載の組成物。

【0112】

(103) 上記 R h o キナーゼポリペプチドは、配列番号 19 のアミノ酸の 1 位～1388 位を含む、項目 101 に記載の組成物。

【0113】

(104) 上記神経は、脊髄損傷、脳血管障害または脳外傷を含む状態にある、項目 101 に記載の組成物。

【0114】

(105) 上記因子は、抗体を含む、項目 101 に記載の組成物。

【0115】

(106) 神経を再生するための組成物であって、R h o キナーゼポリペプチドをコードする核酸分子に対して特異的に相互作用する因子を含む、組成物。

【0116】

(107) 上記 R h o キナーゼポリペプチドをコードする核酸分子は、

(a) 配列番号 18 に記載の塩基配列のヌクレオチドまたはそのフラグメント配列を有する、ポリヌクレオチド；

(b) 配列番号 19 に記載のアミノ酸配列のアミノ酸またはそのフラグメントをコードする、ポリヌクレオチド、

(c) 配列番号 19 に記載のアミノ酸配列のアミノ酸において、1 以上のアミノ酸が、置換、付加および欠失からなる群より選択される少なくとも 1 つの変異を有する改変体ポリペプチドであって、生物学的活性を有する改変体ポリペプチドをコードする、ポリヌクレオチド；

(d) 配列番号 18 に記載の塩基配列のヌクレオチドのスプライス変異体

または対立遺伝子変異体である、ポリヌクレオチド；

(e) 配列番号 19 に記載のアミノ酸配列のアミノ酸からなるポリペプチドの種相同体をコードする、ポリヌクレオチド；

(f) (a) ~ (e) のいずれか 1 つのポリヌクレオチドにストリンジェントな条件下でハイブリダイズし、かつ生物学的活性を有するポリペプチドをコードするポリヌクレオチド；または

(g) (a) ~ (e) のいずれか 1 つのポリヌクレオチドまたはその相補配列に対する同一性が少なくとも 70 % である塩基配列からなり、かつ、生物学的活性を有するポリペプチドをコードするポリヌクレオチド、からなる群より選択される、ポリヌクレオチド、を含む、項目 106 に記載の組成物。

【0117】

(108) 上記 R h o キナーゼは、配列番号 18 の 1 位 ~ 4164 を含む、項目 106 に記載の組成物。

【0118】

(109) 上記神経は、脊髄損傷、脳血管障害または脳外傷を含む状態にある、項目 106 に記載の組成物。

【0119】

(110) 上記因子は、アンチセンス分子または RNA i を含む、項目 106 に記載の組成物。

【0120】

(111) 神経を再生するための組成物であって、p 21 ポリペプチドを含む、組成物。

【0121】

(112) 上記 p 21 ポリペプチドは、

(a) 配列番号 13 または配列番号 22 に記載の核酸配列のヌクレオチドもしくはそのフラグメントによってコードされる、ポリペプチド；

(b) 配列番号 14 または配列番号 23 に記載のアミノ酸配列のアミノ酸もしくはそのフラグメントを有する、ポリペプチド；

(c) 配列番号 14 または配列番号 23 に記載のアミノ酸配列のアミノ酸において、1 以上のアミノ酸が、置換、付加および欠失からなる群より選択される少なくとも 1 つの変異を有する改変体ポリペプチドであって、生物学的活性を有する、改変体ポリペプチド

(d) 配列番号 13 または配列番号 22 に記載の塩基配列のヌクレオチドのスプライス改変体もしくは対立遺伝子改変体によってコードされる、ポリペプチド;

(e) 配列番号 14 または配列番号 23 に記載のアミノ酸配列のアミノ酸を有するポリペプチドの、種相同体ポリペプチド; または

(f) (a) ~ (e) のいずれか 1 つのポリペプチドのアミノ酸配列に対する同一性が少なくとも 70 % であるアミノ酸配列からなり、かつ、生物学的活性を有する、ポリペプチド、
を含む、項目 111 に記載の組成物。

【0122】

(113) 上記 p21 ポリペプチドは、配列番号 14 または配列番号 23 のアミノ酸の 1 位 ~ 140 位を含む、項目 111 に記載の組成物。

【0123】

(114) 上記神経は、脊髄損傷、脳血管障害または脳外傷を含む状態にある、項目 111 に記載の組成物。

【0124】

(115) 上記 p21 ポリペプチドは、さらに、PTD ドメインを含む、項目 111 に記載の組成物。

【0125】

(116) 上記 PTD ドメインは、YGRKKRRQRRR またはその 1 または数個の置換、付加および／もしくは欠失を含むアミノ酸配列を有する、項目 115 に記載の組成物。

【0126】

(117) 上記 PTD ドメインは、上記 p21 ポリペプチドの C 末端側または N 末端側に配置される、項目 115 に記載の組成物。

【0127】

(118) 上記 p 2 1 ポリペプチドは、核移行ドメインを実質的に含まない、項目 1 1 1 に記載の組成物。

【0128】

(119) 上記 p 2 1 ポリペプチドは、さらに、PTDドメインを含み、かつ、上記 p 2 1 ポリペプチドは、核移行ドメインを実質的に含まない、項目 1 1 1 に記載の組成物。

【0129】

(120) 上記 p 2 1 ポリペプチドは、さらに、PTDドメインを含み、かつ、上記 p 2 1 ポリペプチドは、核移行ドメインを実質的に含まず、上記 PTDドメインは上記 p 2 1 ポリペプチドの C 末端側に配置される、項目 1 1 1 に記載の組成物。

【0130】

(121) 神経を再生するための組成物であって、p 2 1 ポリペプチドをコードする核酸分子を含む、組成物。

【0131】

(122) 上記 p 2 1 ポリペプチドをコードする核酸分子は、

(a) 配列番号 1 3 または配列番号 2 2 に記載の塩基配列のヌクレオチドまたはそのフラグメント配列を有する、ポリヌクレオチド；

(b) 配列番号 1 4 または配列番号 2 3 に記載のアミノ酸配列のアミノ酸またはそのフラグメントをコードする、ポリヌクレオチド；

(c) 配列番号 1 4 または配列番号 2 3 に記載のアミノ酸配列のアミノ酸において、1 以上のアミノ酸が、置換、付加および欠失からなる群より選択される少なくとも 1 つの変異を有する改変体ポリペプチドであって、生物学的活性を有する改変体ポリペプチドをコードする、ポリヌクレオチド；

(d) 配列番号 1 3 または配列番号 2 2 に記載の塩基配列のヌクレオチドのスプライス変異体または対立遺伝子変異体である、ポリヌクレオチド；

(e) 配列番号 1 4 または配列番号 2 3 に記載のアミノ酸配列のアミノ酸からなるポリペプチドの種相同体をコードする、ポリヌクレオチド；

(f) (a) ~ (e) のいずれか 1 つのポリヌクレオチドにストリンジェントな条件下でハイブリダイズし、かつ生物学的活性を有するポリペプチドをコードするポリヌクレオチド; または

(g) (a) ~ (e) のいずれか 1 つのポリヌクレオチドまたはその相補配列に対する同一性が少なくとも 70% である塩基配列からなり、かつ、生物学的活性を有するポリペプチドをコードするポリヌクレオチド、
からなる群より選択される、ポリヌクレオチド、
を含む、項目 121 に記載の組成物。

【0132】

(123) 上記 p21 ポリペプチドをコードする核酸分子は、配列番号 13 または配列番号 22 の塩基配列の 1 位 ~ 420 位を含む、項目 121 に記載の組成物。

【0133】

(124) 上記神経は、脊髄損傷、脳血管障害または脳外傷を含む状態にある、項目 121 に記載の組成物。

【0134】

(125) 上記 p21 ポリペプチドをコードする核酸分子は、さらに、PTD ドメインをコードする因子を含む、項目 121 に記載の組成物。

【0135】

(126) 上記 PTD ドメインは、YGRKKRRQRRR またはその 1 または数個の置換、付加および／もしくは欠失を含むアミノ酸配列を有する、項目 125 に記載の組成物。

【0136】

(127) 上記 PTD ドメインをコードする配列は、上記 p21 ポリペプチドをコードする配列の 5' 末端側または 3' 末端側に配置される、項目 125 に記載の組成物。

【0137】

(128) 上記 p21 ポリペプチドをコードする核酸分子は、核移行ドメインをコードする配列を実質的に含まない、項目 121 に記載の組成物。

【0138】

(129) 上記 p 2 1 ポリペプチドをコードする核酸分子は、さらに、PTDドメインをコードする配列を含み、かつ、上記 p 2 1 ポリペプチドをコードする核酸分子は、核移行ドメインをコードする配列を実質的に含まない、項目 1 2 1 に記載の組成物。

【0139】

(130) 上記 p 2 1 ポリペプチドをコードする核酸分子は、さらに、PTDドメインをコードする配列を含み、かつ、上記 p 2 1 ポリペプチドをコードする核酸分子は、核移行ドメインをコードする配列を実質的に含まず、上記 PTDドメインをコードする配列は上記 p 2 1 ポリペプチドをコードする核酸分子の 3' 末端側に配置される、項目 1 2 1 に記載の組成物。

【0140】

(131) PTDドメインおよび神経再生因子を含む、神経を再生するための組成物。

【0141】

(132) 上記神経再生因子は、p 7 5 シグナル伝達経路を阻害する、項目 1 3 1 に記載の組成物。

【0142】

(133) 上記神経再生因子は、p 7 5 シグナル伝達経路における伝達因子もしくはその改変体もしくはフラグメント、または p 7 5 シグナル伝達経路における伝達因子に対して特異的に相互作用する因子を含む、項目 1 3 1 に記載の組成物。

【0143】

(134) 上記 p 7 5 シグナル伝達経路における伝達因子は、MAG、GT1b、p 7 5、Rho GDI、Rho、p 2 1 および Rho キナーゼからなる群より選択される少なくとも 1 つの伝達因子を含む、項目 1 3 3 に記載の組成物。

【0144】

(135) 上記神経再生因子は、MAGとGT1bとの相互作用の阻害、G

T1bとp75との相互作用の阻害、p75とRhoとの相互作用の阻害、p75とRho GDIとの相互作用の阻害、RhoとRho GDIとの相互作用の維持または強化、Rho GDPからRho GTPへの変換阻害、RhoとRhoキナーゼとの相互作用の阻害およびRhoキナーゼの活性阻害からなる群より選択される少なくとも1つの作用を有する、項目131に記載の組成物。

【0145】

(136) 上記神経再生因子は、MAGとGT1bとの相互作用を抑制または消失する因子、GT1bとp75との相互作用を抑制または消失する因子、p75とRho GDIとの相互作用を抑制または消失する因子、p75とRhoとの相互作用を抑制または消失する因子、RhoとRho GDIとの相互作用を維持または強化する因子、Rho GDPからRho GTPへの変換を阻害する因子、RhoとRhoキナーゼとの相互作用を阻害する因子、およびRhoキナーゼの活性を阻害する因子からなる群より選択される少なくとも1つの因子を含む、項目131に記載の組成物。

【0146】

(137) 上記神経再生因子は、Pep5ポリペプチド、Pep5ポリペプチドをコードする核酸分子、p75ポリペプチドに対して特異的に相互作用する因子、p75ポリペプチドをコードする核酸分子に対して特異的に相互作用する因子、p75細胞外ドメインポリペプチド、p75細胞外ドメインポリペプチドをコードする核酸分子、Rho GDIポリペプチドに対して特異的に相互作用する因子、Rho GDIポリペプチドをコードする核酸分子に対して特異的に相互作用する因子、Rho GDIポリペプチド、Rho GDIポリペプチドをコードする核酸分子、MAGポリペプチドに対して特異的に相互作用する因子、MAGポリペプチドをコードする核酸分子に対して特異的に相互作用する因子、p21ポリペプチド、p21をコードする核酸分子、Rhoポリペプチドに対して特異的に相互作用する因子、Rhoポリペプチドをコードする核酸分子に対して特異的に相互作用する因子、Rhoキナーゼに対して特異的に相互作用する因子およびRhoキナーゼをコードする核酸分子に対して特異的に相互作用する因子ならびにその改変体およびフラグメントからなる群より選択される因子を含

む、項目 131 に記載の組成物。

【0147】

(138) 上記 PTD ドメインは、YGRKKRRQR RR またはその 1 または数個の置換、付加および／もしくは欠失を含むアミノ酸配列を有する、項目 131 に記載の組成物。

【0148】

(139) 上記 PTD ドメインは、上記神経再生因子の C 末端側または N 末端側に配置される、項目 131 に記載の組成物。

【0149】

(140) 上記神経再生因子は、細胞質に留まり得る、項目 131 に記載の組成物。

【0150】

(141) PTD ドメインをコードする核酸配列および神経再生因子をコードする核酸配列を含む核酸分子を含む、神経を再生するための組成物。

【0151】

(142) 上記神経再生因子は、p75 シグナル伝達経路を阻害する、項目 141 に記載の組成物。

【0152】

(143) 上記神経再生因子は、p75 シグナル伝達経路における伝達因子もしくはその改変体もしくはフラグメント、または p75 シグナル伝達経路における伝達因子に対して特異的に相互作用する因子を含む、項目 141 に記載の組成物。

【0153】

(144) 上記 p75 シグナル伝達経路における伝達因子は、MAG、GT1b、p75、Rho GDI、Rho、p21 および Rho キナーゼからなる群より選択される少なくとも 1 つの伝達因子を含む、項目 143 に記載の組成物。

【0154】

(145) 上記神経再生因子は、MAG と GT1b との相互作用の阻害、G

T1bとp75との相互作用の阻害、p75とRhoとの相互作用の阻害、p75とRho GDIとの相互作用の阻害、RhoとRho GDIとの相互作用の維持または強化、Rho GDPからRho GTPへの変換阻害、RhoとRhoキナーゼとの相互作用の阻害およびRhoキナーゼの活性阻害からなる群より選択される少なくとも1つの作用を有する、項目141に記載の組成物。

【0155】

(146) 上記神経再生因子は、MAGとGT1bとの相互作用を抑制または消失する因子、GT1bとp75との相互作用を抑制または消失する因子、p75とRho GDIとの相互作用を抑制または消失する因子、p75とRhoとの相互作用を抑制または消失する因子、RhoとRho GDIとの相互作用を維持または強化する因子、Rho GDPからRho GTPへの変換を阻害する因子、RhoとRhoキナーゼとの相互作用を阻害する因子、およびRhoキナーゼの活性を阻害する因子からなる群より選択される少なくとも1つの因子を含む、項目141に記載の組成物。

【0156】

(147) 上記神経再生因子は、Pep5ポリペプチド、p75ポリペプチドに対して特異的に相互作用する因子、p75ポリペプチドをコードする核酸分子に対して特異的に相互作用する因子、p75細胞外ドメインポリペプチド、Rho GDIポリペプチド、MAGポリペプチドに対して特異的に相互作用する因子、MAGポリペプチドをコードする核酸分子に対して特異的に相互作用する因子、p21ポリペプチド、Rhoポリペプチドに対して特異的に相互作用する因子、Rhoポリペプチドをコードする核酸分子に対して特異的に相互作用する因子、Rhoキナーゼに対して特異的に相互作用する因子およびRhoキナーゼをコードする核酸分子に対して特異的に相互作用する因子ならびにその改変体およびフラグメントからなる群より選択される因子を含む、項目141に記載の組成物。

【0157】

(148) 上記PTDドメインは、YGRKKRRQRRRまたはその1または数個の置換、付加および／もしくは欠失を含むアミノ酸配列を有する、項目

141に記載の組成物。

【0158】

(149) 上記PTDドメインをコードする配列は、上記神経再生因子の5'末端側または3'末端側に配置される、項目141に記載の組成物。

【0159】

(150) 上記神経再生因子は、細胞質中に留まり得る、項目141に記載の組成物。

【0160】

(151) 神経突起伸展の阻害を破壊または減少する方法であって、p75シグナル伝達経路を阻害する工程を含む、方法。

【0161】

(152) 上記p75シグナル伝達経路の阻害は、p75シグナル伝達経路における伝達因子もしくはその改変体もしくはフラグメント、またはp75シグナル伝達経路における伝達因子に対して特異的に相互作用する因子を再生に有効な量で提供することによる、項目151に記載の方法。

【0162】

(153) 上記p75シグナル伝達経路における伝達因子は、MAG、GT1b、p75、Rho GDI、Rho、p21およびRhoキナーゼからなる群より選択される少なくとも1つの伝達因子を含む、項目151に記載の方法。

【0163】

(154) 上記p75シグナル伝達経路の阻害は、MAGとGT1bとの相互作用の阻害、GT1bとp75との相互作用の阻害、p75とRhoとの相互作用の阻害、p75とRho GDIとの相互作用の阻害、RhoとRho GDIとの相互作用の維持または強化、RhoGDPからRhoGTPへの変換阻害、RhoとRhoキナーゼとの相互作用の阻害およびRhoキナーゼの活性阻害からなる群より選択される、項目151に記載の方法。

【0164】

(155) 上記p75シグナル伝達経路の阻害は、MAGとGT1bとの相互作用を抑制または消失する因子、GT1bとp75との相互作用を抑制または

消失する因子、p 75 と R h o G D I との相互作用を抑制または消失する因子、p 75 と R h o との相互作用を抑制または消失する因子、R h o と R h o G D I との相互作用を維持または強化する因子、R h o G D P から R h o G T P への変換を阻害する因子、R h o と R h o キナーゼとの相互作用を阻害する因子、および R h o キナーゼの活性を阻害する因子からなる群より選択される少なくとも 1 つの因子を再生に有効な量で提供することによる、項目 151 に記載の方法。

【0165】

(156) 上記 p 75 シグナル伝達経路を阻害する工程は、再生に有効な量の、P e p 5 ポリペプチド、P e p 5 ポリペプチドをコードする核酸分子、p 75 ポリペプチドに対して特異的に相互作用する因子、p 75 ポリペプチドをコードする核酸分子に対して特異的に相互作用する因子、p 75 細胞外ドメインポリペプチド、p 75 細胞外ドメインポリペプチドをコードする核酸分子、R h o G D I ポリペプチドに対して特異的に相互作用する因子、R h o G D I ポリペプチドをコードする核酸分子に対して特異的に相互作用する因子、R h o G D I ポリペプチド、R h o G D I ポリペプチドをコードする核酸分子、M A G ポリペプチドに対して特異的に相互作用する因子、M A G ポリペプチドをコードする核酸分子に対して特異的に相互作用する因子、p 21 ポリペプチド、p 21 をコードする核酸分子、R h o ポリペプチドに対して特異的に相互作用する因子、R h o ポリペプチドをコードする核酸分子に対して特異的に相互作用する因子、R h o キナーゼに対して特異的に相互作用する因子および R h o キナーゼをコードする核酸分子に対して特異的に相互作用する因子ならびにその改変体およびフラグメントからなる群より選択される少なくとも 1 つの分子を含む組成物を上記神経に与える工程、

を包含する、項目 151 に記載の方法。

【0166】

(157) 上記因子は、P T D ドメインに結合する、項目 153 に記載の方法。

【0167】

(158) p75シグナル伝達経路を阻害する因子を含む、神経突起伸展の阻害を破壊または減少する組成物。

【0168】

(159) 上記p75シグナル伝達経路を阻害する因子は、神経再生が所望される部位における神経細胞に送達されるのに適切な形態である、項目158に記載の組成物。

【0169】

(160) 上記p75シグナル伝達経路を阻害する因子は、p75シグナル伝達経路における伝達因子もしくはその改変体もしくはフラグメント、またはp75シグナル伝達経路における伝達因子に対して特異的に相互作用する因子を含む、項目158に記載の組成物。

【0170】

(161) 上記p75シグナル伝達経路における伝達因子は、MAG、GT1b、p75、Rho GDI、Rho、p21およびRhoキナーゼからなる群より選択される少なくとも1つの伝達因子を含む、項目160に記載の組成物。

【0171】

(162) 上記p75シグナル伝達経路を阻害する因子は、MAGとGT1bとの相互作用の阻害、GT1bとp75との相互作用の阻害、p75とRhoとの相互作用の阻害、p75とRho GDIとの相互作用の阻害、RhoとRho GDIとの相互作用の維持または強化、Rho GDPからRho GTPへの変換阻害、RhoとRhoキナーゼとの相互作用の阻害およびRhoキナーゼの活性阻害からなる群より選択される少なくとも1つの作用を有する、項目158に記載の組成物。

【0172】

(163) 上記p75シグナル伝達経路を阻害する因子は、MAGとGT1bとの相互作用を抑制または消失する因子、GT1bとp75との相互作用を抑制または消失する因子、p75とRho GDIとの相互作用を抑制または消失する因子、p75とRhoとの相互作用を抑制または消失する因子、RhoとR

h o G D I との相互作用を維持または強化する因子、R h o G D P から R h o G T P への変換を阻害する因子、R h o と R h o キナーゼとの相互作用を阻害する因子、および R h o キナーゼの活性を阻害する因子からなる群より選択される少なくとも 1 つの因子を含み、上記上記 p 7 5 シグナル伝達経路を阻害する因子は、再生に有効な量で存在する、項目 1 5 8 に記載の組成物。

【0173】

(164) 上記 p 7 5 シグナル伝達経路を阻害する因子は、P e p 5 ポリペプチド、P e p 5 ポリペプチドをコードする核酸分子、p 7 5 ポリペプチドに対して特異的に相互作用する因子、p 7 5 ポリペプチドをコードする核酸分子に対して特異的に相互作用する因子、p 7 5 細胞外ドメインポリペプチド、p 7 5 細胞外ドメインポリペプチドをコードする核酸分子、R h o G D I ポリペプチドに対して特異的に相互作用する因子、R h o G D I ポリペプチドをコードする核酸分子に対して特異的に相互作用する因子、R h o G D I ポリペプチド、R h o G D I ポリペプチドをコードする核酸分子、M A G ポリペプチドに対して特異的に相互作用する因子、M A G ポリペプチドをコードする核酸分子に対して特異的に相互作用する因子、p 2 1 ポリペプチド、p 2 1 をコードする核酸分子、R h o ポリペプチドに対して特異的に相互作用する因子、R h o ポリペプチドをコードする核酸分子に対して特異的に相互作用する因子、R h o キナーゼに対して特異的に相互作用する因子および R h o キナーゼをコードする核酸分子に対して特異的に相互作用する因子ならびにその改変体およびフラグメントからなる群より選択される少なくとも 1 つの分子を含む、項目 1 5 8 に記載の組成物。

【0174】

(165) 上記因子は、P T D ドメインに結合する、項目 1 5 8 に記載の組成物。

【0175】

(166) 神経細胞のネットワークの構築のための方法であって、上記神経細胞における p 7 5 シグナル伝達経路を阻害する工程を含む、方法。

【0176】

(167) 上記 p 7 5 シグナル伝達経路の阻害は、p 7 5 シグナル伝達経路

における伝達因子もしくはその改変体もしくはフラグメント、または p 75 シグナル伝達経路における伝達因子に対して特異的に相互作用する因子を再生に有効な量で上記神経細胞に提供することによる、項目 166 に記載の方法。

【0177】

(168) 上記 p 75 シグナル伝達経路における伝達因子は、MAG、GT1b、p 75、Rho GDI、Rho、p 21 および Rho キナーゼからなる群より選択される少なくとも 1 つの伝達因子を含む、項目 166 に記載の方法。

【0178】

(169) 上記 p 75 シグナル伝達経路の阻害は、MAG と GT1b との相互作用の阻害、GT1b と p 75 との相互作用の阻害、p 75 と Rho との相互作用の阻害、p 75 と Rho GDI との相互作用の阻害、Rho と Rho GDI との相互作用の維持または強化、Rho GDP から Rho GTP への変換阻害、Rho と Rho キナーゼとの相互作用の阻害および Rho キナーゼの活性阻害からなる群より選択される、項目 166 に記載の方法。

【0179】

(170) 上記 p 75 シグナル伝達経路の阻害は、MAG と GT1b との相互作用を抑制または消失する因子、GT1b と p 75 との相互作用を抑制または消失する因子、p 75 と Rho GDI との相互作用を抑制または消失する因子、p 75 と Rho との相互作用を抑制または消失する因子、Rho と Rho GDI との相互作用を維持または強化する因子、Rho GDP から Rho GTP への変換を阻害する因子、Rho と Rho キナーゼとの相互作用を阻害する因子、および Rho キナーゼの活性を阻害する因子からなる群より選択される少なくとも 1 つの因子を再生に有効な量で提供することによる、項目 166 に記載の方法。

【0180】

(171) 上記 p 75 シグナル伝達経路を阻害する工程は、再生に有効な量の、Pep5 ポリペプチド、Pep5 ポリペプチドをコードする核酸分子、p 75 ポリペプチドに対して特異的に相互作用する因子、p 75 ポリペプチドをコードする核酸分子に対して特異的に相互作用する因子、p 75 細胞外ドメインポリ

ペプチド、p 75 細胞外ドメインポリペプチドをコードする核酸分子、R h o G D I ポリペプチドに対して特異的に相互作用する因子、R h o G D I ポリペプチドをコードする核酸分子に対して特異的に相互作用する因子、R h o G D I ポリペプチド、R h o G D I ポリペプチドをコードする核酸分子、M A G ポリペプチドに対して特異的に相互作用する因子、M A G ポリペプチドをコードする核酸分子に対して特異的に相互作用する因子、p 21 ポリペプチド、p 21 をコードする核酸分子、R h o ポリペプチドに対して特異的に相互作用する因子、R h o ポリペプチドをコードする核酸分子に対して特異的に相互作用する因子、R h o キナーゼに対して特異的に相互作用する因子および R h o キナーゼをコードする核酸分子に対して特異的に相互作用する因子ならびにその改変体およびフラグメントからなる群より選択される少なくとも 1 つの分子を含む組成物を上記神経に与える工程、

を包含する、項目 166 に記載の方法。

【0181】

(172) 上記因子は、P T D ドメインに結合する、項目 167 に記載の方法。

【0182】

(173) p 75 シグナル伝達経路を阻害する因子を含む、神経細胞のネットワークの構築のための組成物。

【0183】

(174) 上記 p 75 シグナル伝達経路を阻害する因子は、p 75 シグナル伝達経路における伝達因子もしくはその改変体もしくはフラグメント、または p 75 シグナル伝達経路における伝達因子に対して特異的に相互作用する因子を含む、項目 173 に記載の組成物。

【0184】

(175) 上記 p 75 シグナル伝達経路における伝達因子は、M A G、G T 1 b、p 75、R h o G D I、R h o、p 21 および R h o キナーゼからなる群より選択される少なくとも 1 つの伝達因子を含む、項目 174 に記載の組成物。

。

【0185】

(176) 上記 p75 シグナル伝達経路を阻害する因子は、MAG と G T 1 b との相互作用の阻害、G T 1 b と p 7 5 との相互作用の阻害、p 7 5 と R h o との相互作用の阻害、p 7 5 と R h o G D I との相互作用の阻害、R h o と R h o G D I との相互作用の維持または強化、R h o G D P から R h o G T P への変換阻害、R h o と R h o キナーゼとの相互作用の阻害および R h o キナーゼの活性阻害からなる群より選択される少なくとも 1 つの作用を有する、項目 173 に記載の組成物。

【0186】

(177) 上記 p75 シグナル伝達経路を阻害する因子は、MAG と G T 1 b との相互作用を抑制または消失する因子、G T 1 b と p 7 5 との相互作用を抑制または消失する因子、p 7 5 と R h o G D I との相互作用を抑制または消失する因子、p 7 5 と R h o との相互作用を抑制または消失する因子、R h o と R h o G D I との相互作用を維持または強化する因子、R h o G D P から R h o G T P への変換を阻害する因子、R h o と R h o キナーゼとの相互作用を阻害する因子、および R h o キナーゼの活性を阻害する因子からなる群より選択される少なくとも 1 つの因子を含み、上記 p75 シグナル伝達経路を阻害する因子は、再生に有効な量で存在する、項目 173 に記載の組成物。

【0187】

(178) 上記 p75 シグナル伝達経路を阻害する因子は、P e p 5 ポリペプチド、P e p 5 ポリペプチドをコードする核酸分子、p75 ポリペプチドに対して特異的に相互作用する因子、p75 ポリペプチドをコードする核酸分子に対して特異的に相互作用する因子、p75 細胞外ドメインポリペプチド、p75 細胞外ドメインポリペプチドをコードする核酸分子、R h o G D I ポリペプチドに対して特異的に相互作用する因子、R h o G D I ポリペプチドをコードする核酸分子に対して特異的に相互作用する因子、R h o G D I ポリペプチド、R h o G D I ポリペプチドをコードする核酸分子、MAG ポリペプチドに対して特異的に相互作用する因子、MAG ポリペプチドをコードする核酸分子に対して特異的に相互作用する因子、p21 ポリペプチド、p21 をコードする核酸分子

、R h o ポリペプチドに対して特異的に相互作用する因子、R h o ポリペプチドをコードする核酸分子に対して特異的に相互作用する因子、R h o キナーゼに対して特異的に相互作用する因子およびR h o キナーゼをコードする核酸分子に対して特異的に相互作用する因子ならびにその改変体およびフラグメントからなる群より選択される少なくとも1つの分子を含む、項目173に記載の組成物。

【0188】

(179) 上記因子は、PTDドメインに結合する、項目174に記載の組成物。

【0189】

(180) 神経学的疾患を処置するためのキットであって、

(A) p75シグナル伝達経路を阻害する因子を含む組成物によって再生された細胞集団；

(B) 上記細胞集団を保存するための容器を包含する、キット。

【0190】

(181) 上記上記p75シグナル伝達経路を阻害する因子は、p75シグナル伝達経路における伝達因子もしくはその改変体もしくはフラグメント、またはp75シグナル伝達経路における伝達因子に対して特異的に相互作用する因子を含む、項目180に記載のキット。

【0191】

(182) 上記p75シグナル伝達経路における伝達因子は、MAG、GT1b、p75、R h o G D I、R h o、p21およびR h o キナーゼからなる群より選択される少なくとも1つの伝達因子を含む、項目181に記載のキット。

【0192】

(183) 上記p75シグナル伝達経路を阻害する因子は、MAGとGT1bとの相互作用の阻害、GT1bとp75との相互作用の阻害、p75とR h oとの相互作用の阻害、p75とR h o G D Iとの相互作用の阻害、R h oとR h o G D Iとの相互作用の維持または強化、R h o G D PからR h o G T Pへ

の変換阻害、R h o と R h o キナーゼとの相互作用の阻害および R h o キナーゼの活性阻害からなる群より選択される少なくとも 1 つの作用を有する、項目 180 に記載のキット。

【0193】

(184) 上記 p 7 5 シグナル伝達経路を阻害する因子は、M A G と G T 1 b との相互作用を抑制または消失する因子、G T 1 b と p 7 5 との相互作用を抑制または消失する因子、p 7 5 と R h o G D I との相互作用を抑制または消失する因子、p 7 5 と R h o との相互作用を抑制または消失する因子、R h o と R h o G D I との相互作用を維持または強化する因子、R h o G D P から R h o G T P への変換を阻害する因子、R h o と R h o キナーゼとの相互作用を阻害する因子、および R h o キナーゼの活性を阻害する因子からなる群より選択される少なくとも 1 つの因子を含み、上記 p 7 5 シグナル伝達経路を阻害する因子は、再生に有効な量で存在する、項目 180 に記載のキット。

【0194】

(185) 上記 p 7 5 シグナル伝達経路を阻害する因子は、P e p 5 ポリペプチド、P e p 5 ポリペプチドをコードする核酸分子、p 7 5 ポリペプチドに対して特異的に相互作用する因子、p 7 5 ポリペプチドをコードする核酸分子に対して特異的に相互作用する因子、p 7 5 細胞外ドメインポリペプチド、p 7 5 細胞外ドメインポリペプチドをコードする核酸分子、R h o G D I ポリペプチドに対して特異的に相互作用する因子、R h o G D I ポリペプチドをコードする核酸分子に対して特異的に相互作用する因子、R h o G D I ポリペプチド、R h o G D I ポリペプチドをコードする核酸分子、M A G ポリペプチドに対して特異的に相互作用する因子、M A G ポリペプチドをコードする核酸分子に対して特異的に相互作用する因子、p 2 1 ポリペプチド、p 2 1 をコードする核酸分子、R h o ポリペプチドに対して特異的に相互作用する因子、R h o ポリペプチドをコードする核酸分子に対して特異的に相互作用する因子、R h o キナーゼに対して特異的に相互作用する因子および R h o キナーゼをコードする核酸分子に対して特異的に相互作用する因子ならびにその改変体およびフラグメントからなる群より選択される少なくとも 1 つの分子を含む、項目 180 に記載のキット。

【0 1 9 5】

(1 8 6) 上記因子は、P T D ドメインに結合する、項目 1 8 1 に記載のキット。

【0 1 9 6】

(1 8 7) 神経学的疾患を処置するための方法であって、上記方法は、以下：

(a) p 7 5 シグナル伝達経路を阻害する因子を含む組成物によって再生された細胞集団を提供する工程；および

(b) 上記細胞集団を上記患者に移植する工程、
を包含する、方法。

【0 1 9 7】

(1 8 8) 上記 p 7 5 シグナル伝達経路の阻害は、p 7 5 シグナル伝達経路における伝達因子もしくはその改変体もしくはフラグメント、または p 7 5 シグナル伝達経路における伝達因子に対して特異的に相互作用する因子を再生に有効な量で上記神経細胞に提供することによる、項目 1 8 7 に記載の方法。

【0 1 9 8】

(1 8 9) 上記 p 7 5 シグナル伝達経路における伝達因子は、M A G、G T 1 b、p 7 5、R h o G D I、R h o、p 2 1 および R h o キナーゼからなる群より選択される少なくとも 1 つの伝達因子を含む、項目 1 8 8 に記載の方法。

【0 1 9 9】

(1 9 0) 上記 p 7 5 シグナル伝達経路の阻害は、M A G と G T 1 b との相互作用の阻害、G T 1 b と p 7 5 との相互作用の阻害、p 7 5 と R h o との相互作用の阻害、p 7 5 と R h o G D I との相互作用の阻害、R h o と R h o G D I との相互作用の維持または強化、R h o G D P から R h o G T P への変換阻害、R h o と R h o キナーゼとの相互作用の阻害および R h o キナーゼの活性阻害からなる群より選択される、項目 1 8 7 に記載の方法。

【0 2 0 0】

(1 9 1) 上記 p 7 5 シグナル伝達経路の阻害は、M A G と G T 1 b との相互作用を抑制または消失する因子、G T 1 b と p 7 5 との相互作用を抑制または

消失する因子、p 75 と R h o G D I との相互作用を抑制または消失する因子、p 75 と R h o との相互作用を抑制または消失する因子、R h o と R h o G D I との相互作用を維持または強化する因子、R h o G D P から R h o G T P への変換を阻害する因子、R h o と R h o キナーゼとの相互作用を阻害する因子、および R h o キナーゼの活性を阻害する因子からなる群より選択される少なくとも 1 つの因子を再生に有効な量で提供することによる、項目 187 に記載の方法。

【0201】

(192) 上記 p 75 シグナル伝達経路を阻害する工程は、再生に有効な量の、P e p 5 ポリペプチド、P e p 5 ポリペプチドをコードする核酸分子、p 75 ポリペプチドに対して特異的に相互作用する因子、p 75 ポリペプチドをコードする核酸分子に対して特異的に相互作用する因子、p 75 細胞外ドメインポリペプチド、p 75 細胞外ドメインポリペプチドをコードする核酸分子、R h o G D I ポリペプチドに対して特異的に相互作用する因子、R h o G D I ポリペプチドをコードする核酸分子に対して特異的に相互作用する因子、R h o G D I ポリペプチド、R h o G D I ポリペプチドをコードする核酸分子、M A G ポリペプチドに対して特異的に相互作用する因子、M A G ポリペプチドをコードする核酸分子に対して特異的に相互作用する因子、p 21 ポリペプチド、p 21 をコードする核酸分子、R h o ポリペプチドに対して特異的に相互作用する因子、R h o ポリペプチドをコードする核酸分子に対して特異的に相互作用する因子、R h o キナーゼに対して特異的に相互作用する因子および R h o キナーゼをコードする核酸分子に対して特異的に相互作用する因子ならびにその改変体およびフラグメントからなる群より選択される少なくとも 1 つの分子を含む組成物を上記神経に与える工程、

を包含する、項目 187 に記載の方法。

【0202】

(193) 上記因子は、P T D ドメインに結合する、項目 188 に記載の方法。

【0203】

(194) 神経再生を誘導する因子を同定するためのスクリーニング方法であって、上記方法は、以下：

(a) p75シグナル伝達経路において相互作用する少なくとも2つの因子を、試験因子の存在下で接触させる工程、および

(b) 上記少なくとも2つの相互作用する因子の間の相互作用レベルを、上記試験因子の非存在下における相互作用レベルと比較する工程、を包含し、

ここで、上記試験因子の非存在下と比較して、試験因子の存在下において相互作用が減少した場合、上記試験因子は、神経を再生するための因子として同定される、方法。

【0204】

(195) 上記相互作用は、MAGとGTP1bとの相互作用、GTP1bとp75との相互作用、p75とRhoとの相互作用、p75とRho GDIとの相互作用、RhoとRho GDIとの相互作用、RhoGDPからRhoGTPへの変換、RhoとRhoキナーゼとの相互作用およびRhoキナーゼの活性からなる群より選択される少なくとも1つの相互作用を含み、

上記相互作用の減少は、MAGとGTP1bとの相互作用の阻害、GTP1bとp75との相互作用の阻害、p75とRhoとの相互作用の阻害、p75とRho GDIとの相互作用の阻害、RhoとRho GDIとの相互作用の維持または強化、RhoGDPからRhoGTPへの変換阻害、RhoとRhoキナーゼとの相互作用の阻害およびRhoキナーゼの活性阻害からなる群より選択される少なくとも1つの作用を含む、項目194に記載の方法。

【0205】

(196) 上記少なくとも2つの因子は、配列番号4または17に少なくとも70%相同性であるアミノ酸配列を有する第1のポリペプチドまたはそのフラグメントおよび配列番号6に少なくとも70%相同性であるアミノ酸配列を有する第2のポリペプチドまたはそのフラグメントを含み、

上記比較工程(b)は、上記第1のポリペプチドと上記第2のポリペプチドとの間の結合レベルを、上記試験因子の非存在下における結合レベルと比較するこ

とを含む、項目 1 9 4 に記載の方法。

【0 2 0 6】

(1 9 7) 項目 1 9 4 に記載の方法によって同定される、調節因子。

【0 2 0 7】

(1 9 8) 項目 1 9 7 に記載の調節因子を含む、薬学的組成物。

【0 2 0 8】

(1 9 9) 神経学的疾患、障害または状態を、予防または処置する方法であって、上記方法は、項目 1 9 8 に記載の薬学的組成物を被験体に投与する工程を包含する、方法。

【0 2 0 9】

(2 0 0) M A G ポリペプチドをコードする核酸分子、p 7 5 ポリペプチドをコードする核酸分子、R h o G D I ポリペプチドをコードする核酸分子、R h o をコードする核酸分子、p 2 1 をコードする核酸分子および R h o キナーゼをコードする核酸分子からなる群より選択される少なくとも 1 つの核酸分子の配列において野生型とは異なる配列が導入された配列を有する核酸分子を含む、ベクター。

【0 2 1 0】

(2 0 1) 項目 2 0 0 に記載のベクターを含む、細胞。

【0 2 1 1】

(2 0 2) 項目 2 0 0 に記載のベクターを含む、組織。

【0 2 1 2】

(2 0 3) 項目 2 0 0 に記載のベクターを含む、臓器。

【0 2 1 3】

(2 0 4) 項目 2 0 0 に記載のベクターを含む、生物。

【0 2 1 4】

(2 0 5) 項目 2 0 0 に記載のベクターで形質転換された、神経改変トランスジェニック動物。

【0 2 1 5】

(2 0 6) M A G ポリペプチドをコードする核酸分子、p 7 5 ポリペプチド

をコードする核酸分子、R h o G D I ポリペプチドをコードする核酸分子、R h o をコードする核酸分子、p 2 1 をコードする核酸分子および R h o キナーゼをコードする核酸分子からなる群より選択される少なくとも 1 つの核酸分子が欠失された、神経改変ノックアウト動物。

【0216】

【発明の実施の形態】

以下、本発明を説明する。本明細書の全体にわたり、単数形の表現は、特に言及しない限り、その複数形の概念をも含むことが理解されるべきである。従って、単数形の冠詞または形容詞（例えば、英語の場合は「a」、「an」、「the」など）は、特に言及しない限り、その複数形の概念をも含むことが理解されるべきである。また、本明細書において使用される用語は、特に言及しない限り、当該分野で通常用いられる意味で用いられることが理解されるべきである。したがって、他に定義されない限り、本明細書中で使用される全ての専門用語および科学技術用語は、本発明の属する分野の当業者によって一般的に理解されるのと同じ意味を有する。矛盾する場合、本明細書（定義を含めて）が優先する。

【0217】

（定義）

本明細書において「p 7 5 シグナル伝達経路」とは、ミエリン由来タンパク質が神経膜の p 7 5 受容体を介して R h o を活性化し、神経突起の伸展を阻害するにいたる一連のシグナル伝達経路をいい、すなわち、中枢神経の軸索がいったん損傷を受けたらもはや再生しない現象をもたらすメカニズムをいう。p 7 5 シグナル伝達経路は、図 2 2 を参照して説明すると、ミエリン由来タンパク質が p 7 5 に作用すると、p 7 5 を介して R h o が活性化され、神経の突起伸展を阻害する経路である。

【0218】

本明細書において「P e p 5」とは、p 7 5 の細胞内ドメインに結合することにより、p 7 5 による R h o の活性化を阻害するペプチドをいう。P e p 5 は、代表的に、配列番号 1（縮重核酸配列）および配列番号 2（アミノ酸配列）に示す配列を有し、その改変体およびフラグメントもまた、生物学的活性を有する限

り、P e p 5 の定義内に含まれる。P e p 5 の生物学的活性としては、例えば、ミエリン由来タンパク質による神経突起伸展阻害のブロックが挙げられるがそれらに限定されず、そのような活性は、ミエリン由来タンパク質の R h o 活性化のブロックのような R h o の活性アッセイで測定することができる。

【0219】

本明細書において「p 7 5 N T R」とは、ニューロトロフィンレセプターであり、ニューロトロフィンならびにいくつかのミエリン成分（ミエリン結合糖タンパク質、N o g o および稀突起神経膠細胞ミエリン糖タンパク質を含む）による軸索伸長の調節に関与する。ニューロトロフィンレセプター（p 7 5 N T R）は、驚くべきほど多様な生物学的効果（例えば、細胞死、シュヴァン細胞移動、シナプス伝達の調節、ならびに感覚ニューロンおよびカルシウム流動の機能的調節が挙げられる）を媒介する（例えば、D e c h a n t , G. & B a r d e , Y. A. , N a t N e u r o s c i. 5, 1131-1136 (2002) を参照のこと）。近年の研究において、p 7 5 N T R は、軸索伸長の調節にも関連付けられている。

【0220】

本明細書において「p 7 5」は、p 7 5 N T R と本明細書において互換可能に用いられ、ニューロトロフィンをリガンドとし、また、ミエリン由来タンパク質のシグナル伝達を介する、一回膜貫通型受容体をいう。p 7 5 は、代表的に、配列番号 3 または 1 6（核酸配列、それぞれヒトまたはラット）および配列番号 4 または 1 7（アミノ酸配列、それぞれヒトまたはラット）に示す配列を有し、その改変体およびフラグメントもまた、生物学的活性を有する限り、p 7 5 の定義内に含まれる。p 7 5 の生物学的活性としては、例えば、ニューロトロフィンによる神経突起伸展の促進が挙げられるがそれらに限定されず、そのような活性は、ニューロトロフィンによる R h o の活性阻害のようなアッセイで測定することができる。

【0221】

本明細書において「p 7 5 細胞外ドメイン」とは、細胞膜上に一回膜貫通型受容体として存在している p 7 5 のアミノ末端で細胞外にある部分をいう。p 7 5

細胞外ドメインは、代表的に、配列番号3（核酸配列、ヒト）の1110位～1283位または配列番号16（核酸配列、ラット）の1113位～1277位および配列番号4（アミノ酸配列、ヒト）の273位～427位、または配列番号17（アミノ酸配列、ラット）の274位～425位に示す配列を有し、その改変体およびフラグメントもまた、生物学的活性を有する限り、p75細胞外ドメインの定義内に含まれる。p75細胞外ドメインの生物学的活性としては、例えば、ミエリン由来タンパク質による神経突起伸展阻害のブロックが挙げられるがそれらに限定されず、そのような活性は、ミエリン由来タンパク質によるRhoの活性化のブロックのようなアッセイで測定することができる。

【0222】

本明細書中では、「p75細胞外ドメイン」はまた「可溶性p75ポリペプチド」とも称される。したがって、可溶性p75ポリペプチドは、それ自体が膜中に係留していないp75ポリペプチドである。このような、可溶性ポリペプチドとしては、例えば、そのポリペプチドを係留するのに十分なその膜貫通部分を欠いているに改変されている、p75ポリペプチドが挙げられるがそれに限定されない。好ましい実施形態において、5、10、20または25アミノ酸までが、p75のC末端から除去され、各タンパク質を可溶性にする。

【0223】

可溶性p75ポリペプチドとしては、推定GPIシグナル配列までの全p75タンパク質を含み得る。他の実施形態において、これらのタンパク質のシグナルペプチドは、除去され得るかまたは短縮化され得る。

【0224】

用語「Rho GDP解離抑制タンパク質」または「Rho GDI」は、交換可能に使用され、ヌクレオチド解離の阻害ならびに細胞質と膜との間のRhoタンパク質の往復に役割をはたすタンパク質である（例えば、Sasaki, T. & Takai, Y., Biochem Biophys Res Commun. 245, 641-645 (1998)を参照のこと）。Rho GDIは、Rhoファミリーのタンパク質が、膜に転位する活性なGTP結合形態に変換されることを妨げる。さらに、Rhoタンパク質の活性形態が膜において不活性形

態に変換された後、R h o G D I は、その R h o タンパク質と複合体を形成し、そして細胞質ゾルに転位する。R h o G D I ファミリーは、少なくとも 3 つのアイソフォーム：R h o G D I α 、R h o G D I β 、および R h o G D I γ を含む。R h o G D I α は、遍在的に発現し、これまで研究されている R h o ファミリーのタンパク質の全てに結合し、一方、R h o G D I β および R h o G D I γ は、特有の組織発現パターンを示す。R h o G D I は、代表的に、配列番号 5（核酸配列）および配列番号 6（アミノ酸配列）に示す配列を有し、その改変体およびフラグメントもまた、生物学的活性を有する限り、R h o G D I の定義内に含まれる。R h o G D I の生物学的活性としては、例えば、GDP 結合型 R h o との結合が挙げられるがそれらに限定されず、そのような活性は、GDP-GTP E x c h a n g e A s s a y のようなアッセイで測定することができる。

【0225】

本明細書において「MAG」または「ミエリン結合糖タンパク質」とは、互換可能に使用され、m y e l i n - a s s o c i a t e d g l y c o p r o t e i n の略であり、オリゴデンドロサイト・シュワン細胞の膜上に存在する糖タンパク質をさす。MAG は、代表的に、配列番号 7（核酸配列）および配列番号 8（アミノ酸配列）に示す配列を有し、その改変体およびフラグメントもまた、生物学的活性を有する限り、MAG の定義内に含まれる。MAG の生物学的活性としては、例えば、神経突起伸展阻害が挙げられるがそれらに限定されず、そのような活性は、神経細胞において R h o を活性化することを確かめるようなアッセイで測定することができる。

【0226】

本明細書において「N o g o」とは、オリゴデンドロサイトの細胞膜上に存在する、2 回膜貫通型タンパク質をいう。N o g o は、代表的に、配列番号 9（核酸配列）および配列番号 10（アミノ酸配列）に示す配列を有し、その改変体およびフラグメントもまた、生物学的活性を有する限り、N o g o の定義内に含まれる。N o g o の生物学的活性としては、例えば、神経細胞の突起伸展阻害が挙げられるがそれらに限定されず、そのような活性は、神経細胞の R h o の活性化

を見るアッセイなどで測定することができる。

【0227】

用語「R h o」とは、アクチン重合化の状態を調節する低分子G T P a s eである。その活性なG T P結合形態において、R h oは、アクチン細胞骨格を堅くし、それによって、軸索伸長を阻害し、そして成長円錐の崩壊を媒介する（例えば、D a v i e s, A. M., C u r r. B i o l. 10, R198-200 (2000)、およびS c h m i d t, A. & H a l l, A., G e n e s D e v. 16, 1587-1609 (2002)を参照のこと）。R h oは、代表的に、以下に説明するR h o Aの配列である、配列番号11（核酸配列）および配列番号12（アミノ酸配列）に示す配列を有し、その改変体およびフラグメントもまた、生物学的活性を有する限り、R h oの定義内に含まれる。R h oの生物学的活性としては、例えば、神経突起の伸展制御が挙げられるがそれらに限定されず、そのような活性は、エフェクタータンパク質を用いたA f f i n i t y P r e c i p i t a t i o n（親和性沈降）のようなアッセイで測定することができる。

【0228】

本明細書において「R h o A」とは、R h oファミリーのメンバーである分子であり、代表的に、配列番号11（核酸配列）および配列番号12（アミノ酸配列）に示す配列を有し、その改変体およびフラグメントもまた、生物学的活性を有する限り、R h o Aの定義内に含まれる。R h o Aの生物学的活性としては、例えば、神経突起の伸展制御が挙げられるがそれらに限定されず、そのような活性は、エフェクタータンパク質を用いた親和性沈降のようなアッセイで測定することができる。

【0229】

本明細書において「R h oキナーゼ」とは、R h oによってリン酸化機能が調節される機能を有する生体分子をいう。R h oキナーゼは、代表的には、配列番号18（核酸配列）および配列番号19（アミノ酸配列）を有し、その改変体およびフラグメントもまた、生物学的活性（代表的には、リン酸化する活性、R h oによって調節されることなど）を有する限り、R h oキナーゼの定義内に含ま

れる。

【0230】

本明細書において「G T 1 b」とは、ガングリオシドの一種である分子であり、当該分野において定義されるのと同じ意味で用いられる。G T 1 bの生物学的活性としては、例えば、M A Gまたはp 7 5への結合が挙げられるがそれらに限定されず、そのような活性は、M A Gまたはp 7 5への結合実験のようなアッセイで測定することができる。M A Gとの結合という意味においてG T 1 bと同等の働きを有する分子としては、たとえば、G D 1 a、 α 系列のガングリオシドなどが挙げられるがそれらに限定されない。ここで、G T 1 b以外のこのようなガングリオシドは、G T 1 bとの競争阻害作用を有し得ることから、M A Gのインヒビターとして使用することが可能である。

【0231】

本明細書において「p 2 1」とは、サイクリン依存性タンパク質キナーゼインヒビター (c y c l i n - d e p e n d e n t p r o t e i n k i n a s e i n h i b i t o r) の一分子であり、別名W A F 1またはC i p 1とも呼ばれる。したがって、本明細書では、「p 2 1」は、「p 2 1 C i p 1 / W A F 1」とも表記される。p 2 1は、代表的に、配列番号13または配列番号22 (核酸配列) および配列番号14または配列番号23 (アミノ酸配列) に示す配列を有し、その改変体およびフラグメントもまた、生物学的活性を有する限り、p 2 1の定義内に含まれる。p 2 1の生物学的活性としては、例えば、細胞サイクルの停止が挙げられるがそれらに限定されず、そのような活性は、神経細胞の分子誘導のようなアッセイで測定することができる。

【0232】

p 2 1 C i p 1 / W A F 1 遺伝子は、C d k 2との相互作用を介して同定され (H a r p e r, J. W., G. R. A d a m i, N. W e i, K. K e y o m a r s i, およびS. J. E l l e d g e. 1993., C e l l. 75: 805-816)、そしてその発現は、野生型p 5 3の活性化によって (e l - D e i r y, W. S., T. T o k i n o, V. E. V e l c u l e s c u, D. B. L e v y, R. P a r s o n s, J. M. T r e n t, D. L i n, W. E.

Mercer, K. W. Kinzler, およびB. Vogelstein. 1993, Cell. 75:817-825)、ならびに細胞老化の間(Noda, A., Y. Ning, S. F. Venable, O. M. Pereira-Smith, およびJ. R. Smith. 1994., Exp. Cell. Res. 211:90-98) および分化の間(Jiang, H., J. Lin, Z. Z. Su, F. R. Collart, E. Huberman, およびP. B. Fisher. 1994., Oncogene. 9:3397-3406)に誘導される。p21Cip1/WAF1のNH2末端ドメインは、サイクリン-Cdkキナーゼを阻害し、そしてp21Cip1/WAF1のCOOH-末端ドメインは、増大している細胞核抗原を阻害する(Waga, S., G. J. Hannon, D. Beach, およびB. Stillman. 1994., Nature. 369:574-578; Chen, J., P. K. Jackson, M. W. Kirschner, およびA. Dutta. 1995. Nature. 374:386-388; Luo, Y., J. Hurwitz, およびJ. Massague. 1995., Nature. 375:159-161; Sherr, C. J., およびJ. M. Roberts. 1995., Genes. Dev. 9:1149-1163)。p21Cip1/WAF1のこれらの細胞周期阻害活性は、その核局在化に起因する(Goubin, F., およびB. Duccommun. 1995., Oncogene. 10:2281-2287; Sherr, C. J., およびJ. M. Roberts. 1995. Genes. Dev. 9:1149-1163)。しかし、近年の研究によって、p21Cip1/WAF1は細胞質において他の生物学的活性を有することが証明された。ビタミンD3を用いた処理による、U937細胞およびHL60細胞の単球分化のプロセスの間に、p21Cip1/WAF1発現が細胞質で誘導され、そしてこの細胞質p21Cip1/WAF1は、アポトーシスシグナル調節キナーゼ1と複合体を形成し、ストレス活性化MAPKカスケードを阻害し、ゆえに、種々のアポトーシス生成(apoptogenic)刺激に対する耐性の獲得に寄与する(Asada, M., T. Yamada, H. Ichijo, D. Delia, K. Miyazono, K. Fukumuro, およびS. Mizuta

ni. 1999., EMBO. J. 18:1223-1234)。p21Cip1/WAF1の細胞質局在はまた、末梢血単球においても観察されている(Asada, M., T. Yamada, H. Ichijo, D. Delia, K. Miyazono, K. Fukumuro, およびS. Mizutani. 1999., EMBO. J. 18:1223-1234)。いくつかの報告によって、核から細胞質へのp21Cip1/WAF1の可能性のある転移機構が提案されている。ホスファチジルイノシトール-3キナーゼ/Aktがp21Cip1/WAF1のCOOH末端NLS中のトレオニン145をリン酸化し、そしてリン酸化されたp21Cip1/WAF1は核に局在する能力を欠くことが報告されている(Zhou, B. P., Y. Liao, W. Xia, B. Spohn, M. H. Lee, およびM. C. Hung. 2001., Nat. Cell. Biol. 3:245-252)。他の論文は、プロテアーゼのカスパーゼファミリーのメンバーによるp21Cip1/WAF1のCOOH末端の短縮化がそのNLSの欠失および局在の変化を引き起こすことを示している(Levkau, B., H. Koyama, E. W. Raines, B. E. Clurman, B. Herren, K. Orth, J. M. Roberts, およびR. Ross. 1998., Mol. Cell. 1:553-563)。

【0233】

ニューロン細胞の分化過程の間、p21Cip1/WAF1はまた、細胞周期の調節に重要な役割を果たす。いくつかの細胞株において、神経成長因子での処理後の間に、p21Cip1/WAF1タンパク質の発現が増大する(Decker, S. J. 1995., J. Biol. Chem. 270:30841-30844; Dobashi, Y., T. Kudoh, A. Matsumine, K. Toyoshima, およびT. Akiyama. 1995., J. Biol. Chem. 270:23031-23037; Yan, G. Z., およびE. B. Ziff. 1995., J. Neurosci. 15:6200-6212; Poluha, W., D. K. Poluha, B. Chang, N. E. Crosbie, C. M. Schonhoff, D. L. Kilpatrick, およびA. H. Ross. 1996., Mol. Cell. Biol. 16:1

335-1341; van Grunsven, L. A., N. Billon, P. Savatier, A. Thomas, J. L. Urdiales, および B. B. Rudkin. 1996., *Oncogene*. 12:1347-1356; Gollapudi, L., および K. E. Neet. 1997., *J. Neurosci. Res.* 49:461-474; Erhardt, J. A., および R. N. Pittman. 1998., *J. Biol. Chem.* 273:23517-23523)。しかし、分化後のニューロンは、他の細胞型と異なり特別な特性を有するようである。なぜなら、新生ニューロンは、軸索および樹状突起を伸長して、適切な標的と連絡するからである。例えば、生後3日～4日までの脊髄神経節ニューロンまたは胚性網膜神経節ニューロンは、急速にその神経突起をミエリン結合糖タンパク質（これは、成体ニューロンの有効な神経突起伸展インヒビターである）にまで伸長し得る（Johnson, P. W., W. Abramow-Newerly, B. Seilheimer, R. Sadoul, M. B. Tropak, M. Arquint, R. J. Dunn, M. Schachner, および J. C. Roder. 1989., *Neuron*. 3:377-385; Mukhopadhyay, G., P. Doherty, F. S. Walsh, P. R. Crocker, および M. T. Filbin. 1994., *Neuron*. 13:757-767; DeBellard, M. E., S. Tang, G. Mukhopadhyay, Y. J. Shen, および M. T. Filbin. 1996., *Mol. Cell. Neurosci.* 7:89-101; ならびに、Cai, D., J. Qiu, Z. Cao, M. McAtee, B. S. Bregman, および M. T. Filbin. 2001., *J. Neurosci.* 21:4731-4739)。これらの知見は、未成熟のニューロンが、阻害分子に対する耐性を与える固有の機構を有し得ることを示唆する。

【0234】

本明細書において「TAT PTDドメイン」または「PTDドメイン」とは、互換可能に使用され、ヒト免疫不全ウイルス（HIV）のTATタンパク質のアミノ末端のアミノ酸配列であって、タンパク質の細胞内導入を促す作用を有す

るものをいう。代表的に、この配列は、YGRKKRRQRRR（配列番号 20）を含むが、それに限定されない。この配列は、任意の作用因子（例えば、p21、Pep5 など）と融合させることができる。本明細書ではまた、PTDドメインを「TAT」と称することがある。

【0235】

本明細書において「神経再生因子」とは、p75シグナル伝達経路などの神経再生に関与する因子であって、神経再生（神経再生の促進または神経抑制の遮断など）の作用を有するものをいう。そのような因子としては、本発明のPep5ポリペプチド、Pep5ポリペプチドをコードする核酸分子、p75ポリペプチドに対して特異的に相互作用する因子、p75ポリペプチドをコードする核酸分子に対して特異的に相互作用する因子、p75細胞外ドメインポリペプチド、p75細胞外ドメインポリペプチドをコードする核酸分子、RhogDIポリペプチドに対して特異的に相互作用する因子、RhogDIポリペプチドをコードする核酸分子に対して特異的に相互作用する因子、RhogDIポリペプチド、RhogDIポリペプチドをコードする核酸分子、MAGポリペプチドに対して特異的に相互作用する因子、MAGポリペプチドをコードする核酸分子に対して特異的に相互作用する因子、p21ポリペプチド、p21をコードする核酸分子、Rhogポリペプチドに対して特異的に相互作用する因子、Rhogポリペプチドをコードする核酸分子に対して特異的に相互作用する因子、Rhogキナーゼに対して特異的に相互作用する因子およびRhogキナーゼをコードする核酸分子に対して特異的に相互作用する因子ならびにその改変体およびフラグメントなどが挙げられるがそれに限定されない。

【0236】

用語「サイレンシング」または「サイレンシングする」は交換可能に使用され、p75NTRとRhogDIとの間の相互作用を破壊することをいう。「サイレンサ」は、p75NTRとRhogDIとの間の相互作用を破壊する因子のことをいう。

【0237】

（用語の定義）

以下に本明細書において特に使用される用語の定義を列挙する。

【0238】

本明細書において使用される用語「タンパク質」、「ポリペプチド」、「オリゴペプチド」および「ペプチド」は、本明細書において同じ意味で使用され、任意の長さのアミノ酸のポリマーをいう。このポリマーは、直鎖であっても分岐していてもよく、環状であってもよい。アミノ酸は、天然のものであっても非天然のものであってもよく、改変されたアミノ酸であってもよい。この用語はまた、複数のポリペプチド鎖の複合体へとアセンブルされたものを包含し得る。この用語はまた、天然または人工的に改変されたアミノ酸ポリマーも包含する。そのような改変としては、例えば、ジスルフィド結合形成、グリコシル化、脂質化、アセチル化、リン酸化または任意の他の操作もしくは改変（例えば、標識成分との結合体化）。この定義にはまた、例えば、アミノ酸の1または2以上のアナログを含むポリペプチド（例えば、非天然のアミノ酸などを含む）、ペプチド様化合物（例えば、ペプチド）および当該分野において公知の他の改変が包含される。本発明の遺伝子産物は、通常ポリペプチド形態をとる。このようなポリペプチド形態の本発明の遺伝子産物は、本発明の診断、予防、治療または予後のための組成物として有用である。

【0239】

本明細書において使用される用語「ポリヌクレオチド」、「オリゴヌクレオチド」および「核酸」は、本明細書において同じ意味で使用され、任意の長さのヌクレオチドのポリマーをいう。この用語はまた、「誘導体オリゴヌクレオチド」または「誘導体ポリヌクレオチド」を含む。「誘導体オリゴヌクレオチド」または「誘導体ポリヌクレオチド」とは、ヌクレオチドの誘導体を含むか、またはヌクレオチド間の結合が通常とは異なるオリゴヌクレオチドまたはポリヌクレオチドをいい、互換的に使用される。そのようなオリゴヌクレオチドとして具体的には、例えば、2'-O-メチル-リボヌクレオチド、オリゴヌクレオチド中のリン酸ジエステル結合がホスホロチオエート結合に変換された誘導体オリゴヌクレオチド、オリゴヌクレオチド中のリン酸ジエステル結合がN3'-P5'ホスホロアミデート結合に変換された誘導体オリゴヌクレオチド、オリゴヌクレオチド

中のリボースとリン酸ジエステル結合とがペプチド核酸結合に変換された誘導体オリゴヌクレオチド、オリゴヌクレオチド中のウラシルがC-5プロピニルウラシルで置換された誘導体オリゴヌクレオチド、オリゴヌクレオチド中のウラシルがC-5チアゾールウラシルで置換された誘導体オリゴヌクレオチド、オリゴヌクレオチド中のシトシンがC-5プロピニルシトシンで置換された誘導体オリゴヌクレオチド、オリゴヌクレオチド中のシトシンがフェノキサジン修飾シトシン (phenoxazine-modified cytosine) で置換された誘導体オリゴヌクレオチド、DNA中のリボースが2'-O-プロピルリボースで置換された誘導体オリゴヌクレオチドおよびオリゴヌクレオチド中のリボースが2'-メトキシエトキシリボースで置換された誘導体オリゴヌクレオチドなどが例示される。他にそうではないと示されなければ、特定の核酸配列はまた、明示的に示された配列と同様に、その保存的に改変された改変体（例えば、縮重コドン置換体）および相補配列を包含することが企図される。具体的には、縮重コドン置換体は、1またはそれ以上の選択された（または、すべての）コドンの3番目の位置が混合塩基および／またはデオキシイノシン残基で置換された配列を作成することにより達成され得る (Batzera, Nucleic Acid Res. 19:5081 (1991); Ohtsukaら, J. Biol. Chem. 260:2605-2608 (1985); Rossoliniら, Mol. Cell. Probes 8:91-98 (1994))。本発明の遺伝子は、通常、このポリヌクレオチド形態をとる。このようなポリヌクレオチド形態の本発明の遺伝子または遺伝子産物は、本発明の診断、予防、治療または予後のための組成物として有用である。

【0240】

本明細書では「核酸分子」もまた、核酸、オリゴヌクレオチドおよびポリヌクレオチドと互換可能に使用され、cDNA、mRNA、ゲノムDNAなどを含む。本明細書では、核酸および核酸分子は、用語「遺伝子」の概念に含まれ得る。ある遺伝子配列をコードする核酸分子はまた、「スプライス変異体（改変体）」を包含する。同様に、核酸によりコードされた特定のタンパク質は、その核酸のスプライス改変体によりコードされる任意のタンパク質を包含する。その名が示

唆するように「スプライス変異体」は、遺伝子のオルタナティブスプライシングの産物である。転写後、最初の核酸転写物は、異なる（別の）核酸スプライス産物が異なるポリペプチドをコードするようにスプライスされ得る。スプライス変異体の産生機構は変化するが、エキソンのオルタナティブスプライシングを含む。読み過し転写により同じ核酸に由来する別のポリペプチドもまた、この定義に包含される。スプライシング反応の任意の産物（組換え形態のスプライス産物を含む）がこの定義に含まれる。したがって、本明細書では、たとえば、本発明の遺伝子には、そのスプライス変異体もまた包含され得る。

【0241】

本明細書において、「遺伝子」とは、遺伝形質を規定する因子をいう。通常染色体上に一定の順序に配列している。タンパク質の一次構造を規定するものを構造遺伝子といい、その発現を左右するものを調節遺伝子（たとえば、プロモーター）という。本明細書では、遺伝子は、特に言及しない限り、構造遺伝子および調節遺伝子を包含する。したがって、Pep5、p75、Rho GDI、MAG、p21、Rho、Rhoキナーゼなどの遺伝子というときは、通常、本発明の遺伝子の構造遺伝子ならびにそのプロモーターなどの転写および／または翻訳の調節配列の両方を包含する。本発明では、構造遺伝子のほか、転写および／または翻訳などの調節配列もまた、神経再生、神経疾患の診断、治療、予防、予後などに有用であることが理解される。本明細書では、「遺伝子」は、「ポリヌクレオチド」、「オリゴヌクレオチド」、「核酸」および「核酸分子」ならびに／または「タンパク質」、「ポリペプチド」、「オリゴペプチド」および「ペプチド」を指すことがある。本明細書においてはまた、「遺伝子産物」は、遺伝子によって発現された「ポリヌクレオチド」、「オリゴヌクレオチド」、「核酸」および「核酸分子」ならびに／または「タンパク質」「ポリペプチド」、「オリゴペプチド」および「ペプチド」を包含する。当業者であれば、遺伝子産物が何たるかはその状況に応じて理解することができる。

【0242】

本明細書において遺伝子（例えば、核酸配列、アミノ酸配列など）の「相同性」とは、2以上の遺伝子配列の、互いに対する同一性の程度をいう。また、本明

細書において配列（核酸配列、アミノ酸配列など）の同一性とは、2以上の対比可能な配列の、互いに対する同一の配列（個々の核酸、アミノ酸など）の程度をいう。従って、ある2つの遺伝子の相同性が高いほど、それらの配列の同一性または類似性は高い。2種類の遺伝子が相同性を有するか否かは、配列の直接の比較、または核酸の場合ストリンジェントな条件下でのハイブリダイゼーション法によって調べられ得る。2つの遺伝子配列を直接比較する場合、その遺伝子配列間でDNA配列が、代表的には少なくとも50%同一である場合、好ましくは少なくとも70%同一である場合、より好ましくは少なくとも80%、90%、95%、96%、97%、98%または99%同一である場合、それらの遺伝子は相同性を有する。本明細書において、遺伝子（例えば、核酸配列、アミノ酸配列など）の「類似性」とは、上記相同性において、保存的置換をポジティブ（同一）とみなした場合の、2以上の遺伝子配列の、互いに対する同一性の程度をいう。従って、保存的置換がある場合は、その保存的置換の存在に応じて相同性と類似性とは異なる。また、保存的置換がない場合は、相同性と類似性とは同じ数値を示す。

【0243】

本明細書では、アミノ酸配列および塩基配列の類似性、同一性および相同性の比較は、配列分析用ツールであるFASTAを用い、デフォルトパラメータを用いて算出される。

【0244】

本明細書において、「アミノ酸」は、本発明の目的を満たす限り、天然のものでも非天然のものでもよい。「誘導体アミノ酸」または「アミノ酸アナログ」とは、天然に存在するアミノ酸とは異なるがもとのアミノ酸と同様の機能を有するものをいう。そのような誘導体アミノ酸およびアミノ酸アナログは、当該分野において周知である。用語「天然のアミノ酸」とは、天然のアミノ酸のL-異性体を意味する。天然のアミノ酸は、グリシン、アラニン、バリン、ロイシン、イソロイシン、セリン、メチオニン、トレオニン、フェニルアラニン、チロシン、トリプトファン、システイン、プロリン、ヒスチジン、アスパラギン酸、アスパラギン、グルタミン酸、グルタミン、γ-カルボキシグルタミン酸、アルギニン、

オルニチン、およびリジンである。特に示されない限り、本明細書でいう全てのアミノ酸はL体であるが、D体のアミノ酸を用いた形態もまた本発明の範囲内にある。用語「非天然アミノ酸」とは、タンパク質中で通常は天然に見出されないアミノ酸を意味する。非天然アミノ酸の例として、ノルロイシン、パラニトロフェニルアラニン、ホモフェニルアラニン、パラフルオロフェニルアラニン、3-アミノ-2-ベンジルプロピオン酸、ホモアルギニンのD体またはL体およびD-フェニルアラニンが挙げられる。「アミノ酸アナログ」とは、アミノ酸ではないが、アミノ酸の物性および／または機能に類似する分子をいう。アミノ酸アナログとしては、例えば、エチオニン、カナバニン、2-メチルグルタミンなどが挙げられる。アミノ酸模倣物とは、アミノ酸の一般的な化学構造とは異なる構造を有するが、天然に存在するアミノ酸と同様な様式で機能する化合物をいう。

【0245】

アミノ酸は、その一般に公知の3文字記号か、またはIUPAC-IUB Biochemical Nomenclature Commissionにより推奨される1文字記号のいずれかにより、本明細書中で言及され得る。ヌクレオチドも同様に、一般に認知された1文字コードにより言及され得る。

【0246】

本明細書において、「対応する」アミノ酸とは、あるタンパク質分子またはポリペプチド分子において、比較の基準となるタンパク質またはポリペプチドにおける所定のアミノ酸と同様の作用を有するか、または有することが予測されるアミノ酸をいい、特に酵素分子にあつては、活性部位中の同様の位置に存在し触媒活性に同様の寄与をするアミノ酸をいう。例えば、アンチセンス分子であれば、そのアンチセンス分子の特定の部分に対応するオルソログにおける同様の部分であり得る。

【0247】

本明細書において、「対応する」遺伝子とは、ある種において、比較の基準となる種における所定の遺伝子と同様の作用を有するか、または有することが予測される遺伝子をいい、そのような作用を有する遺伝子が複数存在する場合、進化

学的に同じ起源を有するものをいう。従って、ある遺伝子の対応する遺伝子は、その遺伝子のオルソログであり得る。したがって、マウスの *Pep5*、*p75*、*Rho GDI*、*MAG*、*p21*、*Rho*、*Rho* キナーゼなどの遺伝子に対応する遺伝子は、他の動物（ヒト、ラット、ブタ、ウシなど）においても見出すことができる。そのような対応する遺伝子は、当該分野において周知の技術を用いて同定することができる。したがって、例えば、ある動物における対応する遺伝子は、対応する遺伝子の基準となる遺伝子（例えば、マウスの *Pep5*、*p75*、*Rho GDI*、*MAG*、*p21*、*Rho*、*Rho* キナーゼなどの遺伝子）の配列をクエリ配列として用いてその動物（例えばヒト、ラット）の配列データベースを検索することによって見出すことができる。

【0248】

本明細書中使用される「異種」とは、異なる配列または対応しない配列、あるいは異なる種由来の配列である、ヌクレオチド配列またはアミノ酸配列をいう。例えば、マウス *MAG* のヌクレオチド配列またはアミノ酸配列は、ヒト *MAG* のヌクレオチド配列またはアミノ酸配列に対して異種であり、そしてヒト *MAG* の核酸配列またはアミノ酸配列は、ヒトアルブミンのヌクレオチド配列またはアミノ酸配列に対して異種である。

【0249】

本明細書において「ヌクレオチド」は、天然のものでも非天然のものでもよい。「誘導体ヌクレオチド」または「ヌクレオチドアナログ」とは、天然に存在するヌクレオチドとは異なるがもとのヌクレオチドと同様の機能を有するものをいう。そのような誘導体ヌクレオチドおよびヌクレオチドアナログは、当該分野において周知である。そのような誘導体ヌクレオチドおよびヌクレオチドアナログの例としては、ホスホロチオエート、ホスホルアミデート、メチルホスホネート、キラルメチルホスホネート、2-*O*-メチルリボヌクレオチド、ペプチド-核酸（PNA）が含まれるが、これらに限定されない。

【0250】

本明細書において「フラグメント」とは、全長のポリペプチドまたはポリヌクレオチド（長さが n ）に対して、 $1 \sim n-1$ までの配列長さを有するポリペプチ

ドまたはポリヌクレオチドをいう。フラグメントの長さは、その目的に応じて、適宜変更することができ、例えば、その長さの下限としては、ポリペプチドの場合、3、4、5、6、7、8、9、10、15、20、25、30、40、50 およびそれ以上のアミノ酸が挙げられ、ここの具体的に列挙していない整数で表される長さ（例えば、11 など）もまた、下限として適切であり得る。また、ポリヌクレオチドの場合、5、6、7、8、9、10、15、20、25、30、40、50、75、100 およびそれ以上のヌクレオチドが挙げられ、ここの具体的に列挙していない整数で表される長さ（例えば、11 など）もまた、下限として適切であり得る。本明細書において、ポリペプチドおよびポリヌクレオチドの長さは、上述のようにそれぞれアミノ酸または核酸の個数で表すことができるが、上述の個数は絶対的なものではなく、同じ機能を有する限り、上限または加減としての上述の個数は、その個数の上下数個（または例えば上下10%）のものも含むことが意図される。そのような意図を表現するために、本明細書では、個数の前に「約」を付けて表現することがある。しかし、本明細書では、「約」のあるなしはその数値の解釈に影響を与えないことが理解されるべきである。本明細書において有用なフラグメントの長さは、そのフラグメントの基準となる全長タンパク質の機能のうち少なくとも1つの機能が保持されているかどうかによって決定され得る。

【0251】

本明細書において第一の物質または因子が第二の物質または因子に「特異的に相互作用する」とは、第一の物質または因子が、第二の物質または因子に対して、第二の物質または因子以外の物質または因子（特に、第二の物質または因子を含むサンプル中に存在する他の物質または因子）に対するよりも高い親和性で相互作用することをいう。物質または因子について特異的な相互作用としては、例えば、核酸におけるハイブリダイゼーション、タンパク質における抗原抗体反応、リガンド－レセプター反応、酵素－基質反応など、核酸およびタンパク質の両方が関係する場合、転写因子とその転写因子の結合部位との反応など、タンパク質－脂質相互作用、核酸－脂質相互作用などが挙げられるがそれらに限定されない。従って、物質または因子がともに核酸である場合、第一の物質または因子が

第二の物質または因子に「特異的に相互作用する」ことには、第一の物質または因子が、第二の物質または因子に対して少なくとも一部に相補性を有することが包含される。また例えば、物質または因子がともにタンパク質である場合、第一の物質または因子が第二の物質または因子に「特異的に相互作用する」こととしては、例えば、抗原抗体反応による相互作用、レセプターーリガンド反応による相互作用、酵素－基質相互作用などが挙げられるがそれらに限定されない。2種類の物質または因子がタンパク質および核酸を含む場合、第一の物質または因子が第二の物質または因子に「特異的に相互作用する」ことには、転写因子と、その転写因子が対象とする核酸分子の結合領域との間の相互作用が包含される。したがって、本明細書においてポリヌクレオチドまたはポリペプチドなどの生物学的因子に対して「特異的に相互作用する因子」とは、そのポリヌクレオチドまたはそのポリペプチドなどの生物学的因子に対する親和性が、他の無関連の（特に、同一性が30%未満の）ポリヌクレオチドまたはポリペプチドに対する親和性よりも、代表的には同等またはより高いか、好ましくは有意に（例えば、統計学的に有意に）高いものを包含する。そのような親和性は、例えば、ハイブリダイゼーションアッセイ、結合アッセイなどによって測定することができる。本明細書において「因子」（agent）としては、意図する目的を達成することができる限りどのような物質または他の要素（例えば、光、放射能、熱、電気などのエネルギー）でもあってもよい。そのような物質としては、例えば、タンパク質、ポリペプチド、オリゴペプチド、ペプチド、ポリヌクレオチド、オリゴヌクレオチド、ヌクレオチド、核酸（例えば、cDNA、ゲノムDNAのようなDNA、mRNAのようなRNAを含む）、ポリサッカリド、オリゴサッカリド、脂質、有機低分子（例えば、ホルモン、リガンド、情報伝達物質、有機低分子、コンビナトリアルケミストリで合成された分子、医薬品として利用され得る低分子（例えば、低分子リガンドなど）など）、これらの複合分子が挙げられるがそれらに限定されない。ポリヌクレオチドに対して特異的な因子としては、代表的には、そのポリヌクレオチドの配列に対して一定の配列相同性を（例えば、70%以上の配列同一性）もって相補性を有するポリヌクレオチド、プロモーター領域に結合する転写因子のようなポリペプチドなどが挙げられるがそれらに限定されな

い。ポリペプチドに対して特異的な因子としては、代表的には、そのポリペプチドに対して特異的に指向された抗体またはその誘導体あるいはその類似物（例えば、単鎖抗体）、そのポリペプチドがレセプターまたはリガンドである場合の特異的なリガンドまたはレセプター、そのポリペプチドが酵素である場合、その基質などが挙げられるがそれらに限定されない。

【0252】

本明細書中で使用される「化合物」は、任意の識別可能な化学物質または分子を意味し、これらには、低分子、ペプチド、タンパク質、糖、ヌクレオチド、または核酸が挙げられるが、これらに限定されず、そしてこのような化合物は、天然物または合成物であり得る。

【0253】

本明細書において p 7 5 シグナル伝達経路における「伝達因子」とは、p 7 5 シグナル伝達経路において、シグナルを伝達する役割を担う分子をいう。そのような分子としては、例えば、MAG、GT1b、p 7 5、Rho GDI、Rho、p 2 1 および Rho キナーゼなどが挙げられるがそれらに限定されない。

【0254】

本明細書において p 7 5 シグナル伝達経路の「抑制」および「阻害」とは、そのシグナル伝達経路が一部または全部遮断され、その結果シグナルが完全には伝達されなくなる（好ましくは、全く伝達されない）ことをいう。本明細書において p 7 5 シグナル伝達経路の伝達因子の「阻害」および「阻害」もまた、本明細書において同様に解され、シグナル伝達経路の伝達因子が一部または全部機能しなくなり、その結果シグナルが完全には伝達されなくなる（好ましくは、全く伝達されない）ことをいう。そのような抑制または阻害の機構としては、例えば、MAG、GT1b、p 7 5、Rho GDI、Rho、p 2 1 および Rho キナーゼなどを変異、抑制または阻害あるいは消失させることが挙げられるがそれらに限定されない。

【0255】

本明細書において「有機低分子」とは、有機分子であって、比較的分子量が小さなものをいう。通常有機低分子は、分子量が約 1000 以下のものをいうが、

それ以上のものであってもよい。有機低分子は、通常当該分野において公知の方法を用いるかそれらを組み合わせて合成することができる。そのような有機低分子は、生物に生産させてもよい。有機低分子としては、例えば、ホルモン、リガンド、情報伝達物質、有機低分子、コンビナトリアルケミストリで合成された分子、医薬品として利用され得る低分子（例えば、低分子リガンドなど）などが挙げられるがそれらに限定されない。

【0256】

本明細書中で使用される「接触（させる）」とは、化合物を、直接的または間接的のいずれかで、本発明のポリペプチドまたはポリヌクレオチドに対して物理的に近接させることを意味する。ポリペプチドまたはポリヌクレオチドは、多くの緩衝液、塩、溶液などに存在し得る。接触とは、核酸分子またはそのフラグメントをコードするポリペプチドを含む、例えば、ビーカー、マイクロタイプレート、細胞培養フラスコまたはマイクロアレイ（例えば、遺伝子チップ）などに化合物を置くことが挙げられる。

【0257】

本明細書において用いられる用語「抗体」は、ポリクローナル抗体、モノクローナル抗体、ヒト抗体、ヒト化抗体、多重特異性抗体、キメラ抗体、および抗イディオタイプ抗体、ならびにそれらの断片、例えば $F(a b')$ 2 および $F a b$ 断片、ならびにその他の組換えにより生産された結合体を含む。さらにこのような抗体を、酵素、例えばアルカリホスファターゼ、西洋ワサビペルオキシダーゼ、 α ガラクトシダーゼなど、に共有結合させまたは組換えにより融合させてよい。

【0258】

本明細書中で使用される「モノクローナル抗体」は、同質な抗体集団を有する抗体組成物をいう。この用語は、それが作製される様式によって限定されない。この用語は、全免疫グロブリン分子ならびに $F a b$ 分子、 $F(a b')$ 2 フラグメント、 $F v$ フラグメント、およびもとのモノクローナル抗体分子の免疫学的結合特性を示す他の分子を含む。ポリクローナル抗体およびモノクローナル抗体を作製する方法は当該分野で公知であり、そして以下でより十分に記載される。

モノクローナル抗体は、当該分野で周知の標準的な技術（例えば、KohlerおよびMilstein, Nature (1975) 256:495）またはその改変（例えば、Buckら (1982) In Vitro 18:377）を使用して調製される。代表的には、マウスまたはラットを、タンパク質キャリアに結合したタンパク質で免疫化し、追加免疫し、そして脾臓（および必要に応じていくつかの大きなリンパ節）を取り出し、そして単一細胞を解離する。必要に応じて、この脾臓細胞は、非特異的接着細胞の除去後、抗原でコーティングされたプレートまたはウェルに細胞懸濁液を適用することにより、スクリーニングされ得る。抗原に特異的なイムノグロブリンを発現するB細胞がプレートに結合し、そして懸濁液の残渣でもリンス除去されない。次いで、得られたB細胞（すなわちすべての剥離した脾臓細胞）をミエローマ細胞と融合させて、ハイブリドーマを得、このハイブリドーマを用いてモノクローナル抗体を産生させる。

【0259】

本明細書において「抗原」(antigen)とは、抗体分子によって特異的に結合され得る任意の基質をいう。本明細書において「免疫原」(immunogen)とは、抗原特異的免疫応答を生じるリンパ球活性化を開始し得る抗原をいう。

【0260】

本明細書において「単鎖抗体」とは、Fv領域の重鎖フラグメントおよび軽鎖フラグメントがアミノ酸架橋を介して連結されることによって形成され、単鎖ポリペプチドを生じたものをいう。

【0261】

本明細書において「複合分子」とは、ポリペプチド、ポリヌクレオチド、脂質、糖、低分子などの分子が複数種連結してできた分子をいう。そのような複合分子としては、例えば、糖脂質、糖ペプチドなどが挙げられるがそれらに限定されない。本明細書では、Pep5、p75、Rho GDI、MAG、p21、Rho、Rhoキナーゼまたはその改変体もしくはフラグメントなどをコードする核酸分子またはその産物あるいはGT1bまたは本発明の因子と同様の機能を有する限り、それぞれPep5、p75、Rho GDI、MAG、p21、Rho

o、R h o キナーゼまたはその改変体もしくはフラグメントなどをコードする核酸分子またはその産物あるいはG T 1 b または本発明の因子としてそのような複合分子も使用することができる。

【0262】

本明細書において「単離された」生物学的因子（例えば、核酸またはタンパク質など）とは、その生物学的因子が天然に存在する生物体の細胞内の他の生物学的因子（例えば、核酸である場合、核酸以外の因子および目的とする核酸以外の核酸配列を含む核酸；タンパク質である場合、タンパク質以外の因子および目的とするタンパク質以外のアミノ酸配列を含むタンパク質など）から実質的に分離または精製されたものをいう。「単離された」核酸およびタンパク質には、標準的な精製方法によって精製された核酸およびタンパク質が含まれる。したがって、単離された核酸およびタンパク質は、化学的に合成した核酸およびタンパク質を包含する。

【0263】

本明細書において「精製された」生物学的因子（例えば、核酸またはタンパク質など）とは、その生物学的因子に天然に随伴する因子の少なくとも一部が除去されたものをいう。したがって、通常、精製された生物学的因子におけるその生物学的因子の純度は、その生物学的因子が通常存在する状態よりも高い（すなわち濃縮されている）。

【0264】

本明細書中で使用される用語「精製された」および「単離された」は、好ましくは少なくとも75重量%、より好ましくは少なくとも85重量%、よりさらに好ましくは少なくとも95重量%、そして最も好ましくは少なくとも98重量%の、同型の生物学的因子が存在することを意味する。

【0265】

本明細書において遺伝子、ポリヌクレオチド、ポリペプチドなど遺伝子産物の「発現」とは、その遺伝子などがインビボで一定の作用を受けて、別の形態になることをいう。好ましくは、遺伝子、ポリヌクレオチドなどが、転写および翻訳されて、ポリペプチドの形態になることをいうが、転写されてmRNAが作製さ

れることもまた発現の一形態であり得る。より好ましくは、そのようなポリペプチドの形態は、翻訳後プロセッシングを受けたものであり得る。

【0266】

従って、本明細書において遺伝子、ポリヌクレオチド、ポリペプチドなどの「発現」の「減少」とは、本発明の因子を作用させたときに、作用させないときよりも、発現の量が有意に減少することをいう。好ましくは、発現の減少は、ポリペプチド（例えば、Pep5、p75、Rho GDI、MAG、p21、Rho、Rhoキナーゼまたはその改変体もしくはフラグメントなど）の発現量の減少を含む。本明細書において遺伝子、ポリヌクレオチド、ポリペプチドなどの「発現」の「増加」とは、本発明の因子を作用させたときに、作用させないときよりも、発現の量が有意に増加することをいう。好ましくは、発現の増加は、ポリペプチド（例えば、Pep5、p75、Rho GDI、MAG、p21、Rho、Rhoキナーゼまたはその改変体もしくはフラグメントなど）の発現量の増加を含む。本明細書において遺伝子の「発現」の「誘導」とは、ある細胞にある因子を作用させてその遺伝子の発現量を増加させることをいう。したがって、発現の誘導は、まったくその遺伝子の発現が見られなかった場合にその遺伝子が発現するようにすること、およびすでにその遺伝子の発現が見られていた場合にその遺伝子の発現が増大することを包含する。このような遺伝子または遺伝子産物（ポリペプチドまたはポリヌクレオチド）の発現の増加または減少は、本発明の治療形態、予後形態または予防形態において有用であり得る。

【0267】

本明細書において、遺伝子が「特異的に発現する」とは、その遺伝子が、植物の特定の部位または時期において他の部位または時期とは異なる（好ましくは高い）レベルで発現されることをいう。特異的に発現するとは、ある部位（特異的部位）にのみ発現してもよく、それ以外の部位においても発現していてもよい。好ましくは特異的に発現するとは、ある部位においてのみ発現することをいう。したがって、本発明において、ある実施形態では、罹患した箇所（例えば、神経）に局所的にPep5、p75、Rho GDI、MAG、p21、Rho、Rhoキナーゼまたはその改変体もしくはフラグメントなどを特異的に発現させて

もよい。

【0268】

本明細書において「生物学的活性」とは、ある因子（例えば、ポリヌクレオチド、タンパク質など）が、生体内において有し得る活性のことをいい、種々の機能（例えば、転写促進活性）を発揮する活性が包含される。例えば、2つの因子が相互作用する（例えば、Pep5とp75、p75とRho GDI、MAGとp75、G1bとp75とが結合する）場合、その生物学的活性は、その二分子との間の結合およびそれによって生じる生物学的変化、例えば、一つの分子を抗体を用いて沈降させたときに他の分子も共沈するとき、2分子は結合していると考えられる。したがって、そのような共沈を見ることが一つの判断手法として挙げられる。また、神経突起の伸展を指標にしてある分子と他の分子とが機能的に関連しているに関連付けることができる。具体的には、MAG、G1b、p75、Rho GDIは相互に関連して神経突起の伸展を阻害するが、Pep5およびp21は、その作用をブロックすることを確認することなどを包含する。例えば、ある因子が酵素である場合、その生物学的活性は、その酵素活性を包含する。別の例では、ある因子がリガンドである場合、そのリガンドが対応するレセプターへの結合を包含する。そのような生物学的活性は、当該分野において周知の技術によって測定することができる。

【0269】

したがって、「活性」は、結合（直接的または間接的のいずれか）を示すかまたは明らかにするか；応答に影響する（すなわち、いくらかの曝露または刺激に応答する測定可能な影響を有する）、種々の測定可能な指標をいい、例えば、本発明のポリペプチドまたはポリヌクレオチドに直接結合する化合物の親和性、または例えば、いくつかの刺激後または事象後の上流または下流のタンパク質の量あるいは他の類似の機能の尺度が、挙げられる。このような活性は、G1bに対するMAG結合の競合阻害のようなアッセイによって測定され得る。ここでは、例えば、標識していない可溶性MAGが、漸増濃度でアッセイ系に添加され、CHO細胞の表面上に発現されたp75-G1bに対するMAGの結合を阻害する。別の例として、神経損傷（SchneilおよびSchwab（1990）

Nature 343、269-272のような)によって引き起こされた病変を横切って伸長するニューロンの能力を評価し得る。

【0270】

本明細書において「相互作用」とは、2つの物質についていうとき、一方の物質と他方の物質との間で力(例えば、分子間力(ファンデルワールス力)、水素結合、疎水性相互作用など)を及ぼしあうこという。通常、相互作用をした2つの物質は、会合または結合している状態にある。

【0271】

本明細書中で使用される用語「結合」は、2つのタンパク質もしくは化合物または関連するタンパク質もしくは化合物の間、あるいはそれらの組み合わせの間での、物理的相互作用または化学的相互作用を意味する。結合には、イオン結合、非イオン結合、水素結合、ファンデルワールス結合、疎水性相互作用などが含まれる。物理的相互作用(結合)は、直接的または間接的であり得、間接的なものは、別のタンパク質または化合物の効果を介するかまたは起因する。直接的な結合とは、別のタンパク質または化合物の効果を介してもまたはそれらに起因しても起こらず、他の実質的な化学中間体を伴わない、相互作用をいう。

【0272】

本明細書中で使用される用語「調節する(modulate)」または「改変する(modify)」は、特定の活性またはタンパク質の量、質または効果における増加または減少あるいは維持を意味する。

【0273】

本明細書において「アンチセンス(活性)」とは、標的遺伝子の発現を特異的に抑制または低減することができる活性をいう。アンチセンス活性は、通常、目的とする遺伝子(例えば、Pep5、p75、Rho GDI、MAG、p21、Rho、Rhoキナーゼまたはその改変体もしくはフラグメントなど)の核酸配列と相補的な、少なくとも8の連続するヌクレオチド長の核酸配列によって達成される。そのような核酸配列は、好ましくは、少なくとも9の連続するヌクレオチド長の、より好ましく10の連続するヌクレオチド長の、さらに好ましくは11の連続するヌクレオチド長の、12の連続するヌクレオチド長の、13の連

続するヌクレオチド長の、14の連続するヌクレオチド長の、15の連続するヌクレオチド長の、20の連続するヌクレオチド長の、25の連続するヌクレオチド長の、30の連続するヌクレオチド長の、40の連続するヌクレオチド長の、50の連続するヌクレオチド長の、核酸配列であり得る。そのような核酸配列を有する分子を本明細書において「アンチセンス分子」、「アンチセンス核酸分子」または「アンチセンス核酸」と称し、これらは互換的に使用される。そのような核酸配列には、上述の配列に対して、少なくとも70%相同な、より好ましくは、少なくとも80%相同な、さらに好ましくは、90%相同な、もっとも好ましくは95%相同な核酸配列が含まれる。そのようなアンチセンス活性は、目的とする遺伝子の核酸配列の5'末端の配列に対して相補的であることが好ましい。そのようなアンチセンスの核酸配列には、上述の配列に対して、1つまたは数個あるいは1つ以上のヌクレオチドの置換、付加および/または欠失を有するものもまた含まれる。本明細書中で開示される核酸配列（例えば、配列番号1、3、5、7、9、11または13など）が与えられれば、本発明のアンチセンス核酸は、WatsonおよびCrick塩基対形成の法則またはHogsteen塩基対形成の法則に従い設計され得る。アンチセンス核酸分子は、p75シグナル伝達因子のmRNAの全コード領域に相補的であり得るが、より好ましくは、p75シグナル伝達因子のmRNAのコード領域または非コード領域の一部のみに対してアンチセンスであるオリゴヌクレオチドである。例えば、アンチセンスオリゴヌクレオチドは、p75シグナル伝達因子のmRNAの翻訳開始部位の周辺の領域に相補的であり得る。アンチセンスオリゴヌクレオチドは、例えば、約5、10、15、20、25、30、35、40、45、または50ヌクレオチド長であり得る。本発明のアンチセンス核酸は、当該分野で公知の手順を用いて、化学合成または酵素的連結反応を用いて構築され得る。例えば、アンチセンス核酸（例えば、アンチセンスオリゴヌクレオチド）は、天然に存在するヌクレオチド、またはその分子の生物学的安定性を増加させるかもしくはアンチセンス核酸とセンス核酸との間で形成された二本鎖の物理的安定性を増加させるように設計された種々の改変ヌクレオチドを用いて（例えば、ホスホロチオエート誘導体およびアクリジン置換ヌクレオチドが使用され得る）化学合成され得る。アン

チセンス核酸を生成するために使用され得る改変ヌクレオチドの例として、5-フルオロウラシル、5-ブロモウラシル、5-クロロウラシル、5-ヨードウラシル、ヒポキサンチン、キサンチン、4-アセチルシトシン、5-(カルボキシヒドロキシメチル)ウラシル、5-カルボキシメチルアミノメチル-2-チオウリジン、5-カルボキシメチルアミノメチルウラシル、ジヒドロウラシル、 β -D-ガラクトシルキューオシン (queosine)、イノシン、N6-イソペンテニルアデニン、1-メチルグアニン、1-メチルイノシン、2, 2-ジメチルグアニン、2-メチルアデニン、2-メチルグアニン、3-メチルシトシン、5-メチルシトシン、N6-アデニン、7-メチルグアニン、5-メチルアミノメチルウラシル、5-メトキシアミノメチル-2-チオウラシル、 β -D-マンノシルキューオシン、5'-メトキシカルボキシメチルウラシル、5-メトキシウラシル、2-メチルチオ-N6-イソペンテニルアデニン、ウラシル-5-オキシ酢酸 (v)、ワイブトキシ (wybutoxosine)、プソイドウラシル、キューオシン、2-チオシトシン、5-メチル-2-チオウラシル、2-チオウラシル、4-チオウラシル、5-メチルウラシル、ウラシル-5-オキシ酢酸メチルエステル、ウラシル-5-オキシ酢酸 (v)、5-メチル-2-チオウラシル、3-(3-アミノ-3-N-2-カルボキシプロピル)ウラシル、(acp3)w、および2, 6-ジアミノプリンなどが挙げられるがそれらに限定されない。

【0274】

本明細書において「RNA i」とは、RNA interferenceの略称で、二本鎖RNA (dsRNAともいう) のようなRNA iを引き起こす因子を細胞に導入することにより、相同なmRNAが特異的に分解され、遺伝子産物の合成が抑制される現象およびそれに用いられる技術をいう。本明細書においてRNA iはまた、場合によっては、RNA iを引き起こす因子と同義に用いられ得る。

【0275】

本明細書において「RNA iを引き起こす因子」とは、RNA iを引き起こすことができるような任意の因子をいう。本明細書において「遺伝子」に対して「

RNA iを引き起こす因子」とは、その遺伝子に関するRNA iを引き起こし、RNA iがもたらす効果（例えば、その遺伝子の発現抑制など）が達成されることをいう。そのようなRNA iを引き起こす因子としては、例えば、標的遺伝子の核酸配列の一部に対して少なくとも約70%の相同性を有する配列またはストリンジントな条件下でハイブリダイズする配列を含む、少なくとも10ヌクレオチド長の二本鎖部分を含むRNAまたはその改変体が挙げられるがそれに限定されない。ここで、この因子は、好ましくは、3' 突出末端を含み、より好ましくは、3' 突出末端は、2ヌクレオチド長以上のDNA（例えば、2～4ヌクレオチド長のDNAであり得る。

【0276】

理論に束縛されないが、RNA iが働く機構として考えられるものの一つとして、dsRNAのようなRNA iを引き起こす分子が細胞に導入されると、比較的長い（例えば、40塩基対以上）RNAの場合、ヘリカーゼドメインを持つダイサー（Dicer）と呼ばれるRNase III様のヌクレアーゼがATP存在下で、その分子を3' 末端から約20塩基対ずつ切り出し、短鎖dsRNA（siRNAとも呼ばれる）を生じる。本明細書において「siRNA」とは、short interfering RNAの略称であり、人工的に化学合成されるかまたは生化学的に合成されたものか、あるいは生物体内で合成されたものか、あるいは約40塩基以上の二本鎖RNAが体内で分解されてできた10塩基対以上の短鎖二本鎖RNAをいい、通常、5' -リン酸、3' -OHの構造を有しており、3' 末端は約2塩基突出している。このsiRNAに特異的なタンパク質が結合して、RISC（RNA-induced silencing complex）が形成される。この複合体は、siRNAと同じ配列を有するmRNAを認識して結合し、RNase III様の酵素活性によってsiRNAの中央部でmRNAを切断する。siRNAの配列と標的として切断するmRNAの配列の関係については、100%一致することが好ましい。しかし、siRNAの中央から外れた位置についての塩基の変異については、完全にRNA iによる切断活性がなくなるのではなく、部分的な活性が残存する。他方、siRNAの中央部の塩基の変異は影響が大きく、RNA iによるmRNAの切断活性が極

度に低下する。このような性質を利用して、変異をもつ mRNA については、その変異を中央に配した siRNA を合成し、細胞内に導入することで特異的に変異を含む mRNA だけを分解することができる。従って、本発明では、siRNA そのものを RNAi を引き起こす因子として用いることができるし、siRNA を生成するような因子（例えば、代表的に約 40 塩基以上の dsRNA）をそのような因子として用いることができる。

【0277】

また、理論に束縛されることを希望しないが、siRNA は、上記経路とは別に、siRNA のアンチセンス鎖が mRNA に結合して RNA 依存性 RNA ポリメラーゼ (RdRP) のプライマーとして作用し、dsRNA が合成され、この dsRNA が再びダイサーの基質となり、新たな siRNA を生じて作用を増幅することも企図される。従って、本発明では、siRNA 自体および siRNA が生じるような因子もまた、有用である。実際に、昆虫などでは、例えば 35 分子の dsRNA 分子が、1,000 コピー以上ある細胞内の mRNA をほぼ完全に分解することから、siRNA 自体および siRNA が生じるような因子が有用であることが理解される。

【0278】

本発明において siRNA と呼ばれる、約 20 塩基前後（例えば、代表的には約 21～23 塩基長）またはそれ未満の長さの二本鎖 RNA を用いることができる。このような siRNA は、細胞に発現させることにより遺伝子発現を抑制し、その siRNA の標的となる病原遺伝子の発現を抑えることから、疾患の治療、予防、予後などに使用することができる。

【0279】

本発明において用いられる siRNA は、RNAi を引き起こすことができる限り、どのような形態を採っていてもよい。

【0280】

別の実施形態において、本発明の RNAi を引き起こす因子は、3' 末端に突出部を有する短いヘアピン構造 (shRNA; short hairpin RNA) であり得る。本明細書において「shRNA」とは、一本鎖 RNA で部分

的に回文状の塩基配列を含むことにより、分子内で二本鎖構造をとり、ヘアピンのような構造となる約20塩基対以上の分子をいう。そのようなshRNAは、人工的に化学合成される。あるいは、そのようなshRNAは、センス鎖およびアンチセンス鎖のDNA配列を逆向きに連結したヘアピン構造のDNAをT7 RNAポリメラーゼによりインビトロでRNAを合成することによって生成することができる。理論に束縛されることは希望しないが、そのようなshRNAは、細胞内に導入された後、細胞内で約20塩基（代表的には例えば、21塩基、22塩基、23塩基）の長さに分解され、siRNAと同様にRNAiを引き起こし、本発明の処置効果があることが理解されるべきである。このような効果は、昆虫、植物、動物（哺乳動物を含む）など広汎な生物において発揮されることが理解されるべきである。このように、shRNAは、siRNAと同様にRNAiを引き起こすことから、本発明の有効成分として用いることができる。shRNAはまた、好ましくは、3' 突出末端を有し得る。二本鎖部分の長さは特に限定されないが、好ましくは約10ヌクレオチド長以上、より好ましくは約20ヌクレオチド長以上であり得る。ここで、3' 突出末端は、好ましくはDNAであり得、より好ましくは少なくとも2ヌクレオチド長以上のDNAであり得、さらに好ましくは2～4ヌクレオチド長のDNAであり得る。

【0281】

本発明において用いられるRNAiを引き起こす因子は、人工的に合成した（例えば、化学的または生化学的）ものでも、天然に存在するものでも用いることができ、この両者の間で本発明の効果に本質的な違いは生じない。化学的に合成したものでは、液体クロマトグラフィーなどにより精製をすることが好ましい。

【0282】

本発明において用いられるRNAiを引き起こす因子は、インビトロで合成することもできる。この合成系において、T7 RNAポリメラーゼおよびT7プロモーターを用いて、鋳型DNAからアンチセンスおよびセンスのRNAを合成する。これらをインビトロでアニーリングした後、細胞に導入すると、上述のような機構を通じてRNAiが引き起こされ、本発明の効果が達成される。ここでは、例えば、リン酸カルシウム法でそのようなRNAを細胞内に導入することが

できる。

【0283】

本発明のRNA_iを引き起こす因子としてはまた、mRNAとハイブリダイズし得る一本鎖、あるいはそれらのすべての類似の核酸アナログのような因子も挙げられる。そのような因子もまた、本発明の処置方法および組成物において有用である。

【0284】

本明細書において、「ストリンジェントな条件でハイブリダイズするポリヌクレオチド」とは、当該分野で慣用される周知の条件をいう。本発明のポリヌクレオチド中から選択されたポリヌクレオチドをプローブとして、コロニー・ハイブリダイゼーション法、プラーク・ハイブリダイゼーション法あるいはサザンブロットハイブリダイゼーション法等を用いることにより、そのようなポリヌクレオチドを得ることができる。具体的には、コロニーあるいはプラーク由来のDNAを固定化したフィルターを用いて、0.7～1.0MのNaCl存在下、65℃でハイブリダイゼーションを行った後、0.1～2倍濃度のSSC (saline-sodium citrate) 溶液 (1倍濃度のSSC溶液の組成は、150mM 塩化ナトリウム、15mM クエン酸ナトリウムである) を用い、65℃条件下でフィルターを洗浄することにより同定できるポリヌクレオチドを意味する。ハイブリダイゼーションは、Molecular Cloning 2nd ed., Current Protocols in Molecular Biology, Supplement 1～38、DNA Cloning 1: Core Techniques, A Practical Approach, Second Edition, Oxford University Press (1995) 等の実験書に記載されている方法に準じて行うことができる。ここで、ストリンジェントな条件下でハイブリダイズする配列からは、好ましくは、A配列のみまたはT配列のみを含む配列が除外される。「ハイブリダイズ可能なポリヌクレオチド」とは、上記ハイブリダイズ条件下で別のポリヌクレオチドにハイブリダイズすることができるポリヌクレオチドをいう。ハイブリダイズ可能なポリヌクレオチドとして具体的には、本発明で具体的に示され

るアミノ酸配列を有するポリペプチドをコードするDNAの塩基配列と少なくとも60%以上の相同性を有するポリヌクレオチド、好ましくは80%以上の相同性を有するポリヌクレオチド、さらに好ましくは95%以上の相同性を有するポリヌクレオチドを挙げることができる。

【0285】

本明細書において「高度にストリンジェントな条件」は、核酸配列において高度の相補性を有するDNA鎖のハイブリダイゼーションを可能にし、そしてミスマッチを有意に有するDNAのハイブリダイゼーションを除外するように設計された条件をいう。ハイブリダイゼーションのストリンジェンシーは、主に、温度、イオン強度、およびホルムアミドのような変性剤の条件によって決定される。このようなハイブリダイゼーションおよび洗浄に関する「高度にストリンジェントな条件」の例は、0.0015M塩化ナトリウム、0.0015Mクエン酸ナトリウム、65～68℃、または0.015M塩化ナトリウム、0.0015Mクエン酸ナトリウム、および50%ホルムアミド、42℃である。このような高度にストリンジェントな条件については、Sambrook et al., Molecular Cloning: A Laboratory Manual、第2版、Cold Spring Harbor Laboratory (Cold Spring Harbor, N. Y. 1989) ; およびAnderson et al., Nucleic Acid Hybridization: a Practical approach、IV、IRL Press Limited (Oxford, England). Limited, Oxford, Englandを参照のこと。必要により、よりストリンジェントな条件（例えば、より高い温度、より低いイオン強度、より高いホルムアミド、または他の変性剤）を、使用してもよい。他の薬剤が、非特異的なハイブリダイゼーションおよび／またはバックグラウンドのハイブリダイゼーションを減少する目的で、ハイブリダイゼーション緩衝液および洗浄緩衝液に含まれ得る。そのような他の薬剤の例としては、0.1%ウシ血清アルブミン、0.1%ポリビニルピロリドン、0.1%ピロリン酸ナトリウム、0.1%ドデシル硫酸ナトリウム (NaDodSO₄ または SDS)、Ficoll、Denhardt 溶液、超音波処理され

たサケ精子DNA（または別の非相補的DNA）および硫酸デキストランであるが、他の適切な薬剤もまた、使用され得る。これらの添加物の濃度および型は、ハイブリダイゼーション条件のストリンジェンシーに実質的に影響を与えることなく変更され得る。ハイブリダイゼーション実験は、通常、pH 6.8～7.4で実施されるが；代表的なイオン強度条件において、ハイブリダイゼーションの速度は、ほとんどpH独立である。Anderson et al.、Nucleic Acid Hybridization: a Practical Approach、第4章、IRL Press Limited (Oxford, England)を参照のこと。

【0286】

DNA二重鎖の安定性に影響を与える因子としては、塩基の組成、長さおよび塩基対不一致の程度が挙げられる。ハイブリダイゼーション条件は、当業者によって調整され得、これらの変数を適用させ、そして異なる配列関連性のDNAがハイブリッドを形成するのを可能にする。完全に一致したDNA二重鎖の融解温度は、以下の式によって概算され得る。

$$T_m (^{\circ}\text{C}) = 81.5 + 16.6 (\log [\text{Na}^+]) + 0.41 (\% \text{G+C}) - 600/N - 0.72 (\% \text{ホルムアミド})$$

ここで、Nは、形成される二重鎖の長さであり、 $[\text{Na}^+]$ は、ハイブリダイゼーション溶液または洗浄溶液中のナトリウムイオンのモル濃度であり、%G+Cは、ハイブリッド中の（グアニン+シトシン）塩基のパーセンテージである。不完全に一致したハイブリッドに関して、融解温度は、各1%不一致（ミスマッチ）に対して約1℃ずつ減少する。

【0287】

本明細書において「中程度にストリンジェントな条件」とは、「高度にストリンジェントな条件」下で生じ得るよりも高い程度の塩基対不一致を有するDNA二重鎖が、形成し得る条件をいう。代表的な「中程度にストリンジェントな条件」の例は、0.015M塩化ナトリウム、0.0015Mクエン酸ナトリウム、50～65℃、または0.015M塩化ナトリウム、0.0015Mクエン酸ナトリウム、および20%ホルムアミド、37～50℃である。例として、0

． 0.15 M ナトリウムイオン中、50℃の「中程度にストリンジェントな」条件は、約21%の不一致を許容する。

【0288】

本明細書において「高度」にストリンジェントな条件と「中程度」にストリンジェントな条件との間に完全な区別は存在しないことがあり得ることが、当業者によって理解される。例えば、0.15 M ナトリウムイオン（ホルムアミドなし）において、完全に一致した長いDNAの融解温度は、約71℃である。65℃（同じイオン強度）での洗浄において、これは、約6%不一致を許容にする。より離れた関連する配列を捕獲するために、当業者は、単に温度を低下させ得るか、またはイオン強度を上昇し得る。

【0289】

約20ヌクレオチドまでのオリゴヌクレオチドプローブについて、1 M NaClにおける融解温度の適切な概算は、
$$T_m = (1 \text{ つの A-T 塩基につき } 2^\circ\text{C}) + (1 \text{ つの G-C 塩基対につき } 4^\circ\text{C})$$
によって提供される。なお、6×クエン酸ナトリウム塩（SSC）におけるナトリウムイオン濃度は、1 M である（Suggsら、Developmental Biology Using Purified Genes、683頁、BrownおよびFox（編）（1981）を参照のこと）。

【0290】

Pep5、p75、Rho GDI、MAG、p21、Rho、Rhoキナーゼまたはその改変体もしくはフラグメントなどのタンパク質をコードする天然の核酸は、例えば、配列番号1、3、5、7、9、11、13、15または16などの核酸配列の一部またはその改変体を含むPCRプライマーおよびハイブリダイゼーションプローブを有するcDNAライブラリーから容易に分離される。好ましいPep5、p75、Rho GDI、MAG、p21、Rho、Rhoキナーゼまたはその改変体もしくはフラグメントなどをコードする核酸は、本質的に1%ウシ血清アルブミン（BSA）；500 mM リン酸ナトリウム（NaPO₄）；1 mM EDTA；42℃の温度で 7% SDS を含むハイブリダイゼーション緩衝液、および本質的に2×SSC（600 mM NaCl；60

mM クエン酸ナトリウム) ; 50℃の0.1% SDSを含む洗浄緩衝液によって定義される低ストリンジェント条件下、さらに好ましくは本質的に50℃の温度での1%ウシ血清アルブミン(BSA) ; 500mM リン酸ナトリウム(NaPO_4) ; 15%ホルムアミド ; 1mM EDTA ; 7% SDSを含むハイブリダイゼーション緩衝液、および本質的に50℃の1×SSC (300mM NaCl ; 30mM クエン酸ナトリウム) ; 1% SDSを含む洗浄緩衝液によって定義される低ストリンジェント条件下、最も好ましくは本質的に50℃の温度での1%ウシ血清アルブミン(BSA) ; 200mM リン酸ナトリウム(NaPO_4) ; 15%ホルムアミド ; 1mM EDTA ; 7% SDSを含むハイブリダイゼーション緩衝液、および本質的に65℃の0.5×SSC (150mM NaCl ; 15mM クエン酸ナトリウム) ; 0.1% SDSを含む洗浄緩衝液によって定義される低ストリンジェント条件下に配列番号1、3、5、7、9、11、13、15または16に示す配列の1つまたはその一部とハイブリダイズし得る。

【0291】

本明細書において「プローブ」とは、インビトロおよび／またはインビボなどのスクリーニングなどの生物学的実験において用いられる、検索の対象となる物質をいい、例えば、特定の塩基配列を含む核酸分子または特定のアミノ酸配列を含むペプチドなどが挙げられるがそれに限定されない。

【0292】

通常プローブとして用いられる核酸分子としては、目的とする遺伝子の核酸配列と相同なまたは相補的な、少なくとも8の連続するヌクレオチド長の核酸配列を有するものが挙げられる。そのような核酸配列は、好ましくは、少なくとも9の連続するヌクレオチド長の、より好ましくは少なくとも10の連続するヌクレオチド長の、さらに好ましくは少なくとも11の連続するヌクレオチド長の、少なくとも12の連続するヌクレオチド長の、少なくとも13の連続するヌクレオチド長の、少なくとも14の連続するヌクレオチド長の、少なくとも15の連続するヌクレオチド長の、少なくとも20の連続するヌクレオチド長の、少なくとも25の連続するヌクレオチド長の、少なくとも30の連続するヌクレオチド長

の、少なくとも40の連続するヌクレオチド長の、少なくとも50の連続するヌクレオチド長の、少なくとも核酸配列であり得る。プローブとして使用される核酸配列には、上述の配列に対して、少なくとも70%相同な、より好ましくは、少なくとも80%相同な、さらに好ましくは、少なくとも90%相同な、少なくとも95%相同な核酸配列が含まれる。

【0293】

本明細書において、「検索」とは、電子的にまたは生物学的あるいは他の方法により、ある核酸塩基配列を利用して、特定の機能および／または性質を有する他の核酸塩基配列を見出すことをいう。電子的な検索としては、BLAST (Altschul et al., J. Mol. Biol. 215:403-410 (1990))、FASTA (Pearson & Lipman, Proc. Natl. Acad. Sci., USA 85:2444-2448 (1988))、Smith and Waterman法 (Smith and Waterman, J. Mol. Biol. 147:195-197 (1981))、およびNeedleman and Wunsch法 (Needleman and Wunsch, J. Mol. Biol. 48:443-453 (1970))などが挙げられるがそれらに限定されない。生物学的な検索としては、ストリンジェントハイブリダイゼーション、ゲノムDNAをナイロンメンブレン等に貼り付けたマクロアレイまたはガラス板に貼り付けたマイクロアレイ (マイクロアレイアッセイ)、PCRおよびin situハイブリダイゼーションなどが挙げられるがそれらに限定されない。本明細書において、本発明において使用されるPep5、p75、Rho GDI、MAG、p21、Rho、Rhoキナーゼなどには、このような電子的検索、生物学的検索によって同定された対応遺伝子も含まれるべきであることが意図される。

【0294】

本明細書において配列 (アミノ酸または核酸など) の「同一性」、「相溶性」および「類似性」のパーセンテージは、比較ウィンドウで最適な状態に整列された配列2つを比較することによって求められる。ここで、ポリヌクレオチド配列またはポリペプチド配列の比較ウィンドウ内の部分には、2つの配列の最適なア

ライメントについての基準配列(他の配列に付加が含まれていればギャップが生じることもあるが、ここでの基準配列は付加も欠失もないものとする)と比較したときに、付加または欠失(すなわちギャップ)が含まれる場合がある。同一の核酸塩基またはアミノ酸残基がどちらの配列にも認められる位置の数を求めることによって、マッチ位置の数を求め、マッチ位置の数を比較ウィンドウ内の総位置数で割り、得られた結果に100を掛けて同一性のパーセンテージを算出する。検索において使用される場合、相同性については、従来技術において周知のさまざまな配列比較アルゴリズムおよびプログラムの中から、適当なものをを用いて評価する。このようなアルゴリズムおよびプログラムとしては、TBLASTN、BLASTP、FASTA、TFASTAおよびCLUSTALW (Pearson and Lipman, 1988, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 85 (8) : 2444-2448、Altschul et al., 1990, J. Mol. Biol. 215 (3) : 403-410、Thompson et al., 1994, Nucleic Acids Res. 22 (2) : 4673-4680、Higgins et al., 1996, Methods Enzymol. 266 : 383-402、Altschul et al., 1990, J. Mol. Biol. 215 (3) : 403-410、Altschul et al., 1993, Nature Genetics 3 : 266-272) があげられるが、何らこれに限定されるものではない。特に好ましい実施形態では、従来技術において周知のBasic Local Alignment Search Tool (BLAST) (たとえば、Karlin and Altschul, 1990, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 87 : 2267-2268、Altschul et al., 1990, J. Mol. Biol. 215 : 403-410、Altschul et al., 1993, Nature Genetics 3 : 266-272、Altschul et al., 1997, Nuc. Acids Res. 25 : 3389-3402を参照のこと) を用いてタンパク質および核酸配列の相同性を評価する。特に、5つの専用BLASTプログラムを用いて以下の作業を実施することによって比較または検索が達成され得る。

【0295】

- (1) BLASTPおよびBLAST3でアミノ酸のクエリー配列をタンパク質配列データベースと比較;
- (2) BLASTNでヌクレオチドのクエリー配列をヌクレオチド配列データベースと比較;
- (3) BLASTXでヌクレオチドのクエリー配列(両方の鎖)を6つの読み枠で変換した概念的翻訳産物をタンパク質配列データベースと比較;
- (4) TBLASTNでタンパク質のクエリー配列を6つの読み枠(両方の鎖)すべてで変換したヌクレオチド配列データベースと比較;
- (5) TBLASTXでヌクレオチドのクエリー配列を6つの読み枠で変換したものを、6つの読み枠で変換したヌクレオチド配列データベースと比較。

【0296】

BLASTプログラムは、アミノ酸のクエリー配列または核酸のクエリー配列と、好ましくはタンパク質配列データベースまたは核酸配列データベースから得られた被検配列との間で、「ハイスコアセグメント対」と呼ばれる類似のセグメントを特定することによって相同配列を同定するものである。ハイスコアセグメント対は、多くのものが従来技術において周知のスコアリングマトリックスによって同定(すなわち整列化)されると好ましい。好ましくは、スコアリングマトリックスとしてBLOSUM62マトリックス(Gonnet et al., 1992, Science 256:1443-1445、Henikoff and Henikoff, 1993, Proteins 17:49-61)を使用する。このマトリックスほど好ましいものではないが、PAMまたはPAM250マトリックスも使用できる(たとえば、Schwartz and Dayhoff, eds., 1978, Matrices for Detecting Distance Relationships: Atlas of Protein Sequence and Structure, Washington: National Biomedical Research Foundationを参照のこと)。BLASTプログラムは、同定されたすべてのハイスコアセグメント対の統計的な有意性を評価し、好ましくはユーザー固

有の相同率などのユーザーが独自に定める有意性の閾値レベルを満たすセグメントを選択する。統計的な有意性を求める Karlin の式を用いてハイスコアセグメント対の統計的な有意性を評価すると好ましい (Karlin and Altshul, 1990, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 87:2267-2268 参照のこと)。

【0297】

本明細書における「プライマー」とは、高分子合成酵素反応において、合成される高分子化合物の反応の開始に必要な物質をいう。核酸分子の合成反応では、合成されるべき高分子化合物の一部の配列に相補的な核酸分子 (例えば、DNA または RNA など) が用いられ得る。

【0298】

通常プライマーとして用いられる核酸分子としては、目的とする遺伝子の核酸配列と相補的な、少なくとも 8 の連続するヌクレオチド長の核酸配列を有するものが挙げられる。そのような核酸配列は、好ましくは、少なくとも 9 の連続するヌクレオチド長の、より好ましくは少なくとも 10 の連続するヌクレオチド長の、さらに好ましくは少なくとも 11 の連続するヌクレオチド長の、少なくとも 12 の連続するヌクレオチド長の、少なくとも 13 の連続するヌクレオチド長の、少なくとも 14 の連続するヌクレオチド長の、少なくとも 15 の連続するヌクレオチド長の、少なくとも 16 の連続するヌクレオチド長の、少なくとも 17 の連続するヌクレオチド長の、少なくとも 18 の連続するヌクレオチド長の、少なくとも 19 の連続するヌクレオチド長の、少なくとも 20 の連続するヌクレオチド長の、少なくとも 25 の連続するヌクレオチド長の、少なくとも 30 の連続するヌクレオチド長の、少なくとも 40 の連続するヌクレオチド長の、少なくとも 50 の連続するヌクレオチド長の、核酸配列であり得る。プローブとして使用される核酸配列には、上述の配列に対して、少なくとも 70% 相同な、より好ましくは、少なくとも 80% 相同な、さらに好ましくは、少なくとも 90% 相同な、少なくとも 95% 相同な核酸配列が含まれる。プライマーとして適切な配列は、合成 (増幅) が意図される配列の性質によって変動し得るが、当業者は、意図される配列に応じて適宜プライマーを設計することができる。そのようなプライマー

の設計は当該分野において周知であり、手動でおこなってもよくコンピュータプログラム（例えば、LASERGENE, PrimerSelect, DNASTar）を用いて行ってもよい。

【0299】

本明細書において、「エピトープ」とは、構造の明らかな抗原決定基をいう。従って、エピトープには特定の免疫グロブリンによる認識に関与するアミノ酸残基のセット、または、T細胞の場合は、T細胞レセプタータンパク質および／もしくは主要組織適合性複合体（MHC）レセプターによる認識について必要であるアミノ酸残基のセットが包含される。この用語はまた、「抗原決定基」または「抗原決定部位」と交換可能に使用される。免疫系分野において、インビボまたはインビトロで、エピトープは、分子の特徴（例えば、一次ペプチド構造、二次ペプチド構造または三次ペプチド構造および電荷）であり、免疫グロブリン、T細胞レセプターまたはHLA分子によって認識される部位を形成する。ペプチドを含むエピトープは、エピトープに独特な空間的コンフォメーション中に3つ以上のアミノ酸を含み得る。一般に、エピトープは、少なくとも5つのこのようなアミノ酸からなり、代表的には少なくとも6つ、7つ、8つ、9つ、または10のこのようなアミノ酸からなる。エピトープの長さは、より長いほど、もとのペプチドの抗原性に類似することから一般的に好ましいが、コンフォメーションを考慮すると、必ずしもそうでないことがある。アミノ酸の空間的コンフォメーションを決定する方法は、当該分野で公知であり、例えば、X線結晶学、および2次元核磁気共鳴分光法を含む。さらに、所定のタンパク質におけるエピトープの同定は、当該分野で周知の技術を使用して容易に達成される。例えば、Geysenら（1984）Proc. Natl. Acad. Sci. USA 81:3998（所定の抗原における免疫原性エピトープの位置を決定するために迅速にペプチドを合成する一般的な方法）；米国特許第4,708,871号（抗原のエピトープを同定し、そして化学的に合成するための手順）；およびGeysenら（1986）Molecular Immunology 23:709（所定の抗体に対して高い親和性を有するペプチドを同定するための技術）を参照されたい。同じエピトープを認識する抗体は、単純な免疫アッセイにおいて同定

され得る。このように、ペプチドを含むエピトープを決定する方法は、当該分野において周知であり、そのようなエピトープは、核酸またはアミノ酸の一次配列が提供されると、当業者はそのような周知慣用技術を用いて決定することができる。

【0300】

従って、ペプチドを含むエピトープとして使用するためには、少なくとも3アミノ酸の長さの配列が必要であり、好ましくは、この配列は、少なくとも4アミノ酸、より好ましくは少なくとも5アミノ酸、少なくとも6アミノ酸、少なくとも7アミノ酸、少なくとも8アミノ酸、少なくとも9アミノ酸、少なくとも10アミノ酸、少なくとも15アミノ酸、少なくとも20アミノ酸、少なくとも25アミノ酸の長さの配列が必要であり得る。エピトープは線状であってもコンフォメーション形態であってもよい。

【0301】

(遺伝子、タンパク質分子、核酸分子などの改変)

あるタンパク質分子(例えば、Pep5、p75、Rho GDI、MAG、p21、Rho、Rhoキナーゼなど)において、配列に含まれるあるアミノ酸は、相互作用結合能力の明らかな低下または消失なしに、例えば、カチオン性領域または基質分子の結合部位のようなタンパク質構造において他のアミノ酸に置換され得る。あるタンパク質の生物学的機能を規定するのは、タンパク質の相互作用能力および性質である。従って、特定のアミノ酸の置換がアミノ酸配列において、またはそのDNAコード配列のレベルにおいて行われ得、置換後もなお、もとの性質を維持するタンパク質が生じ得る。従って、生物学的有用性の明らかな損失なしに、種々の改変が、本明細書において開示されたペプチドまたはこのペプチドをコードする対応するDNAにおいて行われ得る。

【0302】

上記のような改変を設計する際に、アミノ酸の疎水性指数が考慮され得る。タンパク質における相互作用的な生物学的機能を与える際の疎水性アミノ酸指数の重要性は、一般に当該分野で認められている(Kyte, JおよびDoolittle, R. F. J. Mol. Biol. 157 (1):105-132, 19

82)。アミノ酸の疎水的性質は、生成したタンパク質の二次構造に寄与し、次いでそのタンパク質と他の分子（例えば、酵素、基質、レセプター、DNA、抗体、抗原など）との相互作用を規定する。各アミノ酸は、それらの疎水性および電荷の性質に基づく疎水性指数を割り当てられる。それらは：イソロイシン（+4.5）；バリン（+4.2）；ロイシン（+3.8）；フェニルアラニン（+2.8）；システイン／シスチン（+2.5）；メチオニン（+1.9）；アラニン（+1.8）；グリシン（-0.4）；スレオニン（-0.7）；セリン（-0.8）；トリプトファン（-0.9）；チロシン（-1.3）；プロリン（-1.6）；ヒスチジン（-3.2）；グルタミン酸（-3.5）；グルタミン（-3.5）；アスパラギン酸（-3.5）；アスパラギン（-3.5）；リジン（-3.9）；およびアルギニン（-4.5）である。

【0303】

あるアミノ酸を、同様の疎水性指数を有する他のアミノ酸により置換して、そして依然として同様の生物学的機能を有するタンパク質（例えば、酵素活性において等価なタンパク質）を生じさせ得ることが当該分野で周知である。このようなアミノ酸置換において、疎水性指数が±2以内であることが好ましく、±1以内であることがより好ましく、および±0.5以内であることがさらに好ましい。疎水性に基づくこのようなアミノ酸の置換は効率的であることが当該分野において理解される。米国特許第4,554,101号に記載されるように、以下の親水性指数がアミノ酸残基に割り当てられている：アルギニン（+3.0）；リジン（+3.0）；アスパラギン酸（+3.0±1）；グルタミン酸（+3.0±1）；セリン（+0.3）；アスパラギン（+0.2）；グルタミン（+0.2）；グリシン（0）；スレオニン（-0.4）；プロリン（-0.5±1）；アラニン（-0.5）；ヒスチジン（-0.5）；システイン（-1.0）；メチオニン（-1.3）；バリン（-1.5）；ロイシン（-1.8）；イソロイシン（-1.8）；チロシン（-2.3）；フェニルアラニン（-2.5）；およびトリプトファン（-3.4）。アミノ酸が同様の親水性指数を有しかつ依然として生物学的等価体を与え得る別のものに置換され得ることが理解される。このようなアミノ酸置換において、親水性指数が±2以内であることが好まし

く、 ± 1 以内であることがより好ましく、および ± 0.5 以内であることがさらに好ましい。

【0304】

本明細書において、「保存的置換」とは、アミノ酸置換において、元のアミノ酸と置換されるアミノ酸との親水性指数または／および疎水性指数が上記のように類似している置換をいう。保存的置換の例としては、例えば、親水性指数または疎水性指数が、 ± 2 以内のもの同士、好ましくは ± 1 以内のもの同士、より好ましくは ± 0.5 以内のもの同士のものが挙げられるがそれらに限定されない。従って、保存的置換の例は、当業者に周知であり、例えば、次の各グループ内の置換：アルギニンおよびリジン；グルタミン酸およびアスパラギン酸；セリンおよびスレオニン；グルタミンおよびアスパラギン；ならびにバリン、ロイシン、およびイソロイシン、などが挙げられるがこれらに限定されない。

【0305】

本明細書において、「改変体」とは、もとのポリペプチドまたはポリヌクレオチドなどの物質に対して、一部が変更されているものをいう。そのような改変体としては、置換改変体、付加改変体、欠失改変体、短縮 (truncated) 改変体、対立遺伝子変異体などが挙げられる。そのような改変体としては、基準となる核酸分子またはポリペプチドに対して、1または数個の置換、付加および／または欠失、あるいは1つ以上の置換、付加および／または欠失を含むものが挙げられるがそれらに限定されない。対立遺伝子 (allele) とは、同一遺伝子座に属し、互いに区別される遺伝的改変体のことをいう。従って、「対立遺伝子変異体」とは、ある遺伝子に対して、対立遺伝子の関係にある改変体をいう。そのような対立遺伝子変異体は、通常その対応する対立遺伝子と同一または非常に類似性の高い配列を有し、通常はほぼ同一の生物学的活性を有するが、まれに異なる生物学的活性を有することもある。「種相同体またはホモログ (homolog)」とは、ある種の中で、ある遺伝子とアミノ酸レベルまたはヌクレオチドレベルで、相同性 (好ましくは、60%以上の相同性、より好ましくは、80%以上、85%以上、90%以上、95%以上の相同性) を有するものをいう。そのような種相同体を取得する方法は、本明細書の記載から明らかである。「

オルソログ (ortholog)」とは、オルソログ遺伝子 (orthologous gene) ともいい、二つの遺伝子がある共通祖先からの種分化に由来する遺伝子をいう。例えば、多重遺伝子構造をもつヘモグロビン遺伝子ファミリーを例にとると、ヒトおよびマウスの α ヘモグロビン遺伝子はオルソログであるが、ヒトの α ヘモグロビン遺伝子および β ヘモグロビン遺伝子はパラログ (遺伝子重複で生じた遺伝子) である。オルソログは、分子系統樹の推定に有用である。オルソログは、通常別の種において、もとの種と同様の機能を果たしていることがあり得ることから、本発明のオルソログもまた、本発明において有用であり得る。

【0306】

本明細書において「保存的 (に改変された) 改変体」は、アミノ酸配列および核酸配列の両方に適用される。特定の核酸配列に関して、保存的に改変された改変体とは、同一のまたは本質的に同一のアミノ酸配列をコードする核酸をいい、核酸がアミノ酸配列をコードしない場合には、本質的に同一な配列をいう。遺伝コードの縮重のため、多数の機能的に同一な核酸が任意の所定のタンパク質をコードする。例えば、コドン GCA、GCC、GCG、および GCU はすべて、アミノ酸アラニンをコードする。したがって、アラニンがコドンにより特定される全ての位置で、そのコドンは、コードされたポリペプチドを変更することなく、記載された対応するコドンの任意のものに変更され得る。このような核酸の変動は、保存的に改変された変異の 1 つの種である「サイレント改変 (変異)」である。ポリペプチドをコードする本明細書中のすべての核酸配列はまた、その核酸の可能なすべてのサイレント変異を記載する。当該分野において、核酸中の各コドン (通常メチオニンのための唯一のコドンである AUG、および通常トリプトファンのための唯一のコドンである TGG を除く) が、機能的に同一な分子を産生するために改変され得ることが理解される。したがって、ポリペプチドをコードする核酸の各サイレント変異は、記載された各配列において暗黙に含まれる。好ましくは、そのような改変は、ポリペプチドの高次構造に多大な影響を与えるアミノ酸であるシステインの置換を回避するようになされ得る。このような塩基配列の改変法としては、制限酵素などによる切断、DNA ポリメラーゼ、Kle

nowフラグメント、DNAリガーゼなどによる処理等による連結等の処理、合成オリゴヌクレオチドなどを用いた部位特異的塩基置換法（特定部位指向突然変異法；Mark Zoller and Michael Smith, *Methods in Enzymology*, 100, 468-500 (1983)）が挙げられるが、この他にも通常分子生物学の分野で用いられる方法によって改変を行うこともできる。

【0307】

本明細書中において、機能的に等価なポリペプチドを作製するために、アミノ酸の置換のほかに、アミノ酸の付加、欠失、または修飾もまた行うことができる。アミノ酸の置換とは、もとのペプチドを1つ以上、例えば、1～10個、好ましくは1～5個、より好ましくは1～3個のアミノ酸で置換することをいう。アミノ酸の付加とは、もとのペプチド鎖に1つ以上、例えば、1～10個、好ましくは1～5個、より好ましくは1～3個のアミノ酸を付加することをいう。アミノ酸の欠失とは、もとのペプチドから1つ以上、例えば、1～10個、好ましくは1～5個、より好ましくは1～3個のアミノ酸を欠失させることをいう。アミノ酸修飾は、アミド化、カルボキシル化、硫酸化、ハロゲン化、短縮化、脂質化（lipidation）、ホスホリル化、アルキル化、グリコシル化、リン酸化、水酸化、アシル化（例えば、アセチル化）などを含むが、これらに限定されない。置換、または付加されるアミノ酸は、天然のアミノ酸であってもよく、非天然のアミノ酸、またはアミノ酸アナログでもよい。天然のアミノ酸が好ましい

【0308】

本明細書において使用される用語「ペプチドアナログ」または「ペプチド誘導体」とは、ペプチドとは異なる化合物であるが、ペプチドと少なくとも1つの化学的機能または生物学的機能が等価であるものをいう。したがって、ペプチドアナログには、もとのペプチドに対して、1つ以上のアミノ酸アナログまたはアミノ酸誘導体が付加または置換されているものが含まれる。ペプチドアナログは、その機能が、もとのペプチドの機能（例えば、pKa値が類似していること、官能基が類似していること、他の分子との結合様式が類似していること、水溶性が

類似していることなど)と実質的に同様であるように、このような付加または置換がされている。そのようなペプチドアナログは、当該分野において周知の技術を用いて作製することができる。したがって、ペプチドアナログは、アミノ酸アナログを含むポリマーであり得る。

【0309】

本発明のポリペプチドがポリマーに結合している、化学修飾されたポリペプチド組成物は、本発明の範囲に包含される。このポリマーは、水溶性であり得、水溶性環境(例えば、生理学的環境)でこのタンパク質の沈澱を防止し得る。適切な水性ポリマーは、例えば、以下からなる群より選択され得る: ポリエチレングリコール(PEG)、モノメトキシポリエチレングリコール、デキストラン、セルロース、または他の炭水化物に基づくポリマー、ポリ(N-ビニルピロリドン) ポリエチレングリコール、ポリプロピレングリコールホモポリマー、ポリプロピレンオキシド/エチレンオキシドコポリマー、ポリオキシエチル化ポリオール(例えば、グリセロール) およびポリビニルアルコール。この選択されたポリマーは、通常は改変され、単一の反応性基(例えば、アシル化のための活性エステルまたはアルキル化のためのアルデヒド)を有し、その結果、重合度は制御され得る。ポリマーは、任意の分子量であり得、そして、このポリマーは分枝状でも分枝状でなくてもよく、そしてこのようなポリマーの混合物はまた、使用され得る。この化学修飾された本発明のポリマーは、治療用途に決定付けられる場合、薬学的に受容可能なポリマーが使用するために選択される。

【0310】

このポリマーがアシル化反応によって改変される場合、このポリマーは、単一の反応性エステル基を有するべきである。あるいは、このポリマーが還元アルキル化によって改変される場合、このポリマーは単一の反応性アルデヒド基を有するべきである。好ましい反応性アルデヒドは、ポリエチレングリコール、プロピオンアルデヒド(このプロピオンアルデヒドは、水溶性である)または、そのモノC1~C10の、アルコキシ誘導体もしくはアリアルコキシ誘導体である(例えば、米国特許第5,252,714号(これは、本明細書中で全体が参考として援用される)を参照のこと)。

【0311】

本発明のポリペプチドのペグ化 (Pegylation) は、例えば、以下の参考文献に記載されるような、当該分野で公知の、任意のペグ化反応によって実施され得る: Focus on Growth Factors 3, 4-10 (1992); EP 0 154 316 ; および EP 0 401 384 (これらの各々は、本明細書中で、全体が参考として援用される)。好ましくは、このペグ化は、反応性ポリエチレングリコール分子 (または、類似の反応性水溶性ポリマー) とのアシル化反応またはアルキル化反応を介して実施される。本発明のポリペプチド (例えば、MAG、p 75、p 21、Pep 5、Rho、Rho GDI など) のペグ化のための好ましい水溶性ポリマーは、ポリエチレングリコール (PEG) である。本明細書中で使用される場合、「ポリエチレングリコール」は、PEG の任意の形態の包含することを意味し、ここで、この PEG は、他のタンパク質 (例えば、モノ (C1~C10) アルコキシポリエチレングリコールまたはモノ (C1~C10) アリールオキシポリエチレングリコール) を誘導体するために使用される。

【0312】

本発明のポリペプチドの化学誘導体化を、生物学的に活性な物質を活性化したポリマー分子と反応させるのに使用される適切な条件下で、実施され得る。ペグ化した本発明のポリペプチドを調製するための方法は、一般に以下の工程を包含する: (a) p 75 シグナル伝達経路における伝達因子が 1 以上の PEG 基に結合するような条件下で、ポリエチレングリコール (例えば、PEG の、反応性エステルまたはアルデヒド誘導体) とこのポリペプチドを反応させる工程および (b) この反応生成物を得る工程。公知のパラメータおよび所望の結果に基づいて、最適な反応条件またはアシル化反応を選択することは当業者に容易である。

【0313】

ペグ化された本発明のポリペプチドは、一般に、本明細書中に記載のポリペプチドを投与することによって、緩和または調節され得る状態を処置するために使用され得るが、しかし、本明細書中で開示された、化学誘導体化された本発明のポリペプチド分子は、それらの非誘導体分子と比較して、さらなる活性、増大さ

れた生物活性もしくは減少した生物活性、または他の特徴（例えば、増大された半減期または減少した半減期）を有し得る。本発明のポリペプチド、それらのフラグメント、改変体および誘導体は、単独で、併用して、または他の薬学的組成物を組み合わせて使用され得る。これらのサイトカイン、増殖因子、抗原、抗炎症剤および／または化学療法剤は、徴候を処置するのに適切である。

【0314】

同様に、「ポリヌクレオチドアナログ」、「核酸アナログ」は、ポリヌクレオチドまたは核酸とは異なる化合物であるが、ポリヌクレオチドまたは核酸と少なくとも1つの化学的機能または生物学的機能が等価であるものをいう。したがって、ポリヌクレオチドアナログまたは核酸アナログには、もとのペプチドに対して、1つ以上のヌクレオチドアナログまたはヌクレオチド誘導体が付加または置換されているものが含まれる。

【0315】

本明細書において使用される核酸分子は、発現されるポリペプチドが天然型のポリペプチドと実質的に同一の活性を有する限り、上述のようにその核酸の配列の一部が欠失または他の塩基により置換されていてもよく、あるいは他の核酸配列が一部挿入されていてもよい。あるいは、5'末端および／または3'末端に他の核酸が結合していてもよい。また、ポリペプチドをコードする遺伝子をストリンジントな条件下でハイブリダイズし、そのポリペプチドと実質的に同一の機能を有するポリペプチドをコードする核酸分子でもよい。このような遺伝子は、当該分野において公知であり、本発明において利用することができる。

【0316】

このような核酸は、周知のPCR法により得ることができ、化学的に合成することもできる。これらの方法に、例えば、部位特異的変位誘発法、ハイブリダイゼーション法などを組み合わせてもよい。

【0317】

本明細書において、ポリペプチドまたはポリヌクレオチドの「置換、付加または欠失」とは、もとのポリペプチドまたはポリヌクレオチドに対して、それぞれアミノ酸もしくはその代替物、またはヌクレオチドもしくはその代替物が、置き

換わること、付け加わることまたは取り除かれることをいう。このような置換、付加または欠失の技術は、当該分野において周知であり、そのような技術の例としては、部位特異的変異誘発技術などが挙げられる。置換、付加または欠失は、1つ以上であれば任意の数でよく、そのような数は、その置換、付加または欠失を有する改変体において目的とする機能（例えば、ホルモン、サイトカインの情報伝達機能など）が保持される限り、多くすることができる。例えば、そのような数は、1または数個であり得、そして好ましくは、全体の長さの20%以内、10%以内、または100個以下、50個以下、25個以下などであり得る。

【0318】

（一般技術）

本明細書において用いられる分子生物学的手法、生化学的手法、微生物学的手法は、当該分野において周知であり慣用されるものであり、例えば、Sambrook J. et al. (1989). Molecular Cloning: A Laboratory Manual, Cold Spring Harborおよびその3rd Ed. (2001); Ausubel, F. M. (1987). Current Protocols in Molecular Biology, Greene Pub. Associates and Wiley-Interscience; Ausubel, F. M. (1989). Short Protocols in Molecular Biology: A Compendium of Methods from Current Protocols in Molecular Biology, Greene Pub. Associates and Wiley-Interscience; Innis, M. A. (1990). PCR Protocols: A Guide to Methods and Applications, Academic Press; Ausubel, F. M. (1992). Short Protocols in Molecular Biology: A Compendium of Methods from Current Protocols in Molecular Biology, Greene Pub. Associates; Ausubel, F. M. (1

995). Short Protocols in Molecular Biology: A Compendium of Methods from Current Protocols in Molecular Biology, Greene Pub. Associates; Innis, M. A. et al. (1995). PCR Strategies, Academic Press; Ausubel, F. M. (1999). Short Protocols in Molecular Biology: A Compendium of Methods from Current Protocols in Molecular Biology, Wiley, and annual updates; Sninsky, J. J. et al. (1999). PCR Applications: Protocols for Functional Genomics, Academic Press、別冊実験医学「遺伝子導入&発現解析実験法」羊土社、1997などに記載されており、これらは本明細書において関連する部分（全部であり得る）が参考として援用される。

【0319】

人工的に合成した遺伝子を作製するためのDNA合成技術および核酸化学については、例えば、Gait, M. J. (1985). Oligonucleotide Synthesis: A Practical Approach, IRL Press; Gait, M. J. (1990). Oligonucleotide Synthesis: A Practical Approach, IRL Press; Eckstein, F. (1991). Oligonucleotides and Analogues: A Practical Approach, IRL Press; Adams, R. L. et al. (1992). The Biochemistry of the Nucleic Acids, Chapman & Hall; Shabarova, Z. et al. (1994). Advanced Organic Chemistry of Nucleic Acids, Weinheim; Blackburn, G. M. et al. (1996). Nucleic Acids in Chemi

stry and Biology, Oxford University Press; Hermanson, G. T. (1996). Bioconjugate Techniques, Academic Pressなどに記載されており、これらは本明細書において関連する部分が参考として援用される。

【0320】

(遺伝子工学)

本発明において用いられるPep5、p75、Rho GDI、MAG、p21、Rho、Rhoキナーゼなどならびにそのフラグメントおよび改変体は、遺伝子工学技術を用いて生産することができる。

【0321】

本明細書において遺伝子について言及する場合、「ベクター」または「組み換えベクター」とは、目的のポリヌクレオチド配列を目的の細胞へと移入させることができるベクターをいう。そのようなベクターとしては、原核細胞、酵母、動物細胞、植物細胞、昆虫細胞、動物個体および植物個体などの宿主細胞において自立複製が可能、または染色体中への組込みが可能で、本発明のポリヌクレオチドの転写に適した位置にプロモーターを含有しているものが例示される。ベクターのうち、クローニングに適したベクターを「クローニングベクター」という。そのようなクローニングベクターは通常、制限酵素部位を複数含むマルチプルクローニング部位を含む。そのような制限酵素部位およびマルチプルクローニング部位は、当該分野において周知であり、当業者は、目的に合わせて適宜選択して使用することができる。そのような技術は、本明細書に記載される文献（例えば、Sambrookら、前出）に記載されている。好ましいベクターとしては、プラスミド、ファージ、コスミド、エピソーム、ウイルス粒子またはウイルスおよび組み込み可能なDNAフラグメント（すなわち、相同組換えによって宿主ゲノム中に組み込み可能なフラグメント）が挙げられるが、これらに限定されない。好ましいウイルス粒子としては、アデノウイルス、バキュロウイルス、パルボウイルス、ヘルペスウイルス、ポックスウイルス、アデノ随伴ウイルス、セムリキ森林ウイルス、ワクシニアウイルスおよびレトロウイルスが挙げられるが、これらに限定されない。

【0322】

ベクターの1つの型は、「プラスミド」であり、これは、さらなるDNAセグメントが連結され得る環状二重鎖DNAループをいう。別の型のベクターは、ウイルスベクターであり、ここで、さらなるDNAセグメントは、ウイルスゲノム中に連結され得る。特定のベクター（例えば、細菌の複製起点を有する細菌ベクターおよびエピソーム哺乳動物ベクター）は、これらが導入される宿主細胞中で自律的に複製し得る。他のベクター（例えば、非エピソーム哺乳動物ベクター）は、宿主細胞中への導入の際に宿主細胞のゲノム中に組み込まれ、それにより、宿主ゲノムと共に複製される。さらに、特定のベクターは、これらが作動可能に連結される遺伝子の発現を指向し得る。このようなベクターは、本明細書中で、「発現ベクター」といわれる。

【0323】

従って、本明細書において「発現ベクター」とは、構造遺伝子およびその発現を調節するプロモーターに加えて種々の調節エレメントが宿主の細胞中で作動し得る状態で連結されている核酸配列をいう。調節エレメントは、好ましくは、ターミネーター、薬剤耐性遺伝子のような選択マーカーおよび、エンハンサーを含み得る。生物（例えば、動物）の発現ベクターのタイプおよび使用される調節エレメントの種類が、宿主細胞に応じて変わり得ることは、当業者に周知の事項である。

【0324】

本発明において用いられ得る原核細胞に対する「組み換えベクター」としては、p cDNA3 (+)、p Bluescript-SK (+/-)、p GEM-T、p EF-BOS、p EGFP、p HAT、p UC18、p FT-DEST^T M42 GATEWAY (Invitrogen) などが例示される。

【0325】

本発明において用いられ得る動物細胞に対する「組み換えベクター」としては、p cDNA I/Amp、p cDNA I、p CDM8（いずれもフナコシより市販）、p AGE107 [特開平3-229 (Invitrogen)、p AGE103 [J. Biochem., 101, 1307 (1987)]]、p AMo、

pAMoA [J. Biol. Chem., 268, 22782-22787 (1993)]、マウス幹細胞ウイルス (Murine Stem Cell Virus) (MSCV) に基づいたレトロウイルス型発現ベクター、pEF-BO S、pEGFPなどが例示される。

【0326】

本明細書において「ターミネーター」は、遺伝子のタンパク質をコードする領域の下流に位置し、DNAがmRNAに転写される際の転写の終結、ポリA配列の付加に関与する配列である。ターミネーターは、mRNAの安定性に関与して遺伝子の発現量に影響を及ぼすことが知られている。

【0327】

本明細書において「プロモーター」とは、遺伝子の転写の開始部位を決定し、またその頻度を直接的に調節するDNA上の領域をいい、通常RNAポリメラーゼが結合して転写を始める塩基配列である。したがって、本明細書においてある遺伝子のプロモーターの働きを有する部分を「プロモーター部分」という。プロモーターの領域は、通常、推定タンパク質コード領域の第1エキソンの上流約2 kbp以内の領域であることが多いので、DNA解析用ソフトウェアを用いてゲノム塩基配列中のタンパク質コード領域を予測すれば、プロモーター領域を推定することはできる。推定プロモーター領域は、構造遺伝子ごとに変動するが、通常構造遺伝子上流にあるが、これらに限定されず、構造遺伝子の下流にもあり得る。好ましくは、推定プロモーター領域は、第一エキソン翻訳開始点から上流約2 kbp以内に存在する。

【0328】

本明細書において「複製起点」とは、DNA複製が開始する染色体上の特定領域をいう。複製起点は、内因性起点を含むようにそのベクターを構築することによって提供され得るか、または宿主細胞の染色体複製機構により提供され得るかのいずれかであり得る。そのベクターが、宿主細胞染色体中に組み込まれる場合、後者が十分であり得る。あるいは、ウイルス複製起点を含むベクターを使用するよりも、当業者は、選択マーカーと本発明のDNAとを同時形質転換する方法によって、哺乳動物細胞を形質転換し得る。適切な選択マーカーの例は、ジヒド

ロ葉酸還元酵素 (DHFR) またはチミジンキナーゼである (米国特許第 4, 399, 216 号を参照)。

【0329】

例えば、組織特異的調節エレメントを使用して核酸を発現することによって、組換え哺乳動物発現ベクターでは、特定の細胞型において核酸の発現を優先的に指向し得る。組織特異的調節エレメントは、当該分野で公知である。適切な組織特異的プロモーターの非限定的な例としては、発生的に調節されたプロモーター (例えば、マウス *hox* プロモーター (Kessel および Gruss (1990) *Science* 249, 374-379) および α -フェトプロテインプロモーター (Campes および Tilghman (1989) *Genes Dev.* 3, 537-546))、アルブミンプロモーター (肝臓特異的; Pinkert ら (1987) *Genes Dev.* 1, 268-277)、リンパ特異的プロモーター (Calame および Eaton (1988) *Adv. Immunol.* 43, 235-275)、特に T 細胞レセプター (Winoto および Baltimore (1989) *EMBO J.* 8, 729-733) および免疫グロブリン (Banerji ら (1983) *Cell* 33, 729-740; Queen および Baltimore (1983) *Cell* 33, 741-748) のプロモーター、ニューロン特異的プロモーター (例えば、神経線維プロモーター; Byrne および Ruddle (1989) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 86, 5473-5477)、膵臓特異的プロモーター (Edlund ら (1985) *Science* 230, 912-916)、および乳腺特異的プロモーター (例えば、乳清プロモーター; 米国特許第 4, 873, 316 号および欧州出願公開番号 264, 166) が挙げられるがそれらに限定されない。

【0330】

本明細書において「エンハンサー」とは、目的遺伝子の発現効率を高めるために用いられる配列をいう。そのようなエンハンサーは当該分野において周知である。エンハンサーは複数個用いられ得るが 1 個用いられてもよいし、用いなくともよい。

【0331】

本明細書において「作動可能に連結された(る)」とは、所望の配列の発現(作動)がある転写翻訳調節配列(例えば、プロモーター、エンハンサーなど)または翻訳調節配列の制御下に配置されることをいう。プロモーターが遺伝子に作動可能に連結されるためには、通常、その遺伝子のすぐ上流にプロモーターが配置されるが、必ずしも隣接して配置される必要はない。

【0332】

本明細書において、核酸分子を細胞に導入する技術は、どのような技術でもよく、例えば、形質転換、形質導入、トランスフェクションなどが挙げられる。そのような核酸分子の導入技術は、当該分野において周知であり、かつ、慣用されるものであり、例えば、Ausubel F. A. ら編(1988)、Current Protocols in Molecular Biology、Wiley、New York、NY; Sambrook J ら(1987) Molecular Cloning: A Laboratory Manual, 2nd Ed. およびその第三版、Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, NY、別冊実験医学「遺伝子導入&発現解析実験法」羊土社、1997などに記載される。遺伝子の導入は、ノーザンブロット、ウェスタンブロット分析のような本明細書に記載される方法または他の周知慣用技術を用いて確認することができる。

【0333】

また、ベクターの導入方法としては、細胞にDNAを導入する上述のような方法であればいずれも用いることができ、例えば、トランスフェクション、形質導入、形質転換など(例えば、リン酸カルシウム法、リポソーム法、DEAEデキストラン法、エレクトロポレーション法、パーティクルガン(遺伝子銃)を用いる方法など)が挙げられる。

【0334】

本明細書において「形質転換体」とは、形質転換によって作製された細胞などの生命体の全部または一部をいう。形質転換体としては、原核細胞、酵母、動物

細胞、植物細胞、昆虫細胞などが例示される。形質転換体は、その対象に依存して、形質転換細胞、形質転換組織、形質転換宿主などともいわれる。本発明において用いられる細胞は、形質転換体であってもよい。

【0335】

本発明において遺伝子操作などにおいて原核生物細胞が使用される場合、原核生物細胞としては、*Escherichia* 属、*Serratia* 属、*Bacillus* 属、*Brevibacterium* 属、*Corynebacterium* 属、*Microbacterium* 属、*Pseudomonas* 属などに属する原核生物細胞、例えば、*Escherichia coli* XL1-Blue、*Escherichia coli* XL2-Blue、*Escherichia coli* DH1 が例示される。

【0336】

本明細書において使用される場合、動物細胞としては、マウス・ミエローマ細胞、ラット・ミエローマ細胞、マウス・ハイブリドーマ細胞、チャイニーズ・ハムスターの細胞である CHO 細胞、BHK 細胞、アフリカミドリザル腎臓細胞、ヒト白血病細胞、HBT5637（特開昭63-299）、ヒト結腸癌細胞株などを挙げることができる。マウス・ミエローマ細胞としては、ps20、NSO など、ラット・ミエローマ細胞としては YB2/0 など、ヒト胎児腎臓細胞としては HEK293（ATCC:CRL-1573）など、ヒト白血病細胞としては BALL-1 など、アフリカミドリザル腎臓細胞としては COS-1、COS-7、ヒト結腸癌細胞株としては HCT-15、ヒト神経芽細胞腫 SK-N-SH、SK-N-SH-5Y、マウス神経芽細胞腫 Neuro2A などが例示される。

【0337】

本明細書において使用される場合、組換えベクターの導入方法としては、DNA を導入する方法であればいずれも用いることができ、例えば、塩化カルシウム法、エレクトロポレーション法 [Methods. Enzymol., 194, 182 (1990)]、リポフェクション法、スフェロプラスト法 [Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 84, 1929 (1978)]、酢酸リ

チウム法 [J. Bacteriol., 153, 163 (1983)]、Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 75, 1929 (1978) 記載の方法などが例示される。

【0338】

本明細書において、レトロウイルスの感染方法は、例えば、Current Protocols in Molecular Biology 前出 (特に Units 9.9-9.14) などに記載されるように、当該分野において周知であり、例えば、トリプシナイズして胚性幹細胞を単一細胞懸濁物 (single-cell suspension) にした後、ウイルス産生細胞 (virus-producing cells) (パッケージング細胞株=packaging cell lines) の培養上清と一緒に1~2時間共培養 (co-culture) することにより、十分量の感染細胞を得ることができる。

【0339】

本明細書において使用されるゲノムまたは遺伝子座などを除去する方法において用いられる、Cre酵素の一過的発現、染色体上でのDNAマッピングなどは、細胞工学別冊実験プロトコルシリーズ「FISH実験プロトコル ヒト・ゲノム解析から染色体・遺伝子診断まで」松原謙一、吉川 寛 監修 秀潤社 (東京) などに記載されるように、当該分野において周知である。

【0340】

本明細書において遺伝子発現 (たとえば、mRNA発現、ポリペプチド発現) の「検出」または「定量」は、例えば、mRNAの測定および免疫学的測定方法を含む適切な方法を用いて達成され得る。分子生物学的測定方法としては、例えば、ノーザンブロット法、ドットブロット法またはPCR法などが例示される。免疫学的測定方法としては、例えば、方法としては、マイクロタイタープレートを用いるELISA法、RIA法、蛍光抗体法、ウェスタンブロット法、免疫組織染色法などが例示される。また、定量方法としては、ELISA法またはRIA法などが例示される。アレイ (例えば、DNAアレイ、プロテインアレイ) を用いた遺伝子解析方法によっても行われ得る。DNAアレイについては、(秀潤社編、細胞工学別冊「DNAマイクロアレイと最新PCR法」) に広く概説され

ている。プロテインアレイについては、Nat Genet. 2002 Dec ; 32 Suppl : 526-32 に詳述されている。遺伝子発現の分析法としては、上述に加えて、RT-PCR、RACE法、SSCP法、免疫沈降法、two-hybrid システム、インビトロ翻訳などが挙げられるがそれらに限定されない。そのようなさらなる分析方法は、例えば、ゲノム解析実験法 ・ 中村祐輔ラボ・マニュアル、編集・中村祐輔 羊土社 (2002) などに記載されており、本明細書においてそれらの記載はすべて参考として援用される。

【0341】

本明細書において「発現量」とは、対象となる細胞などにおいて、ポリペプチドまたは mRNA が発現される量をいう。そのような発現量としては、本発明の抗体を用いて ELISA 法、RIA 法、蛍光抗体法、ウェスタンブロット法、免疫組織染色法などの免疫学的測定方法を含む任意の適切な方法により評価される本発明ポリペプチドのタンパク質レベルでの発現量、またはノーザンブロット法、ドットブロット法、PCR 法などの分子生物学的測定方法を含む任意の適切な方法により評価される本発明のポリペプチドの mRNA レベルでの発現量が挙げられる。「発現量の変化」とは、上記免疫学的測定方法または分子生物学的測定方法を含む任意の適切な方法により評価される本発明のポリペプチドのタンパク質レベルまたは mRNA レベルでの発現量が増加あるいは減少することを意味する。

【0342】

本明細書において「上流」という用語は、特定の基準点からポリヌクレオチドの 5' 末端に向かう位置を示す。

【0343】

本明細書において「下流」という用語は、特定の基準点からポリヌクレオチドの 3' 末端に向かう位置を示す。

【0344】

本明細書において「塩基対の」および「Watson & Crick 塩基対の」という表現は、本明細書では同義に用いられ、二重らせん状の DNA において見られるものと同様に、アデニン残基が 2 つの水素結合によってチミン残基ま

たはウラシル残基と結合し、3つの水素結合によってシトシン残基とグアニン残基とが結合するという配列の正体に基づいて互いに水素結合可能なヌクレオチドを示す (S t r y e r, L. , B i o c h e m i s t r y, 4 t h e d i t i o n, 1995を参照)。

【0345】

本明細書において「相補的」または「相補体」という用語は、本明細書では、相補領域全体がそのまま別の特定のポリヌクレオチドとW a t s o n & C r i c k塩基対を形成することのできるポリヌクレオチドの配列を示す。本発明の目的で、第1のポリヌクレオチドの各塩基がその相補塩基と対になっている場合に、この第1のポリヌクレオチドは第2のポリヌクレオチドと相補であるとみなす。相補塩基は一般に、AとT (あるいはAとU)、またはCとGである。本願明細書では、「相補」という語を「相補ポリヌクレオチド」、「相補核酸」および「相補ヌクレオチド配列」の同義語として使用する。これらの用語は、その配列のみに基づいてポリヌクレオチドの対に適用されるものであり、2つのポリヌクレオチドが事実上結合状態にある特定のセットに適用されるものではない。

【0346】

(ポリペプチドの製造方法)

本発明のポリペプチド (例えば、P e p 5、p 7 5、R h o G D I、M A G、p 2 1、R h o、R h oキナーゼまたはその改変体もしくはフラグメントなど) をコードするDNAを組み込んだ組換え体ベクターを保有する微生物、動物細胞などに由来する形質転換体を、通常の培養方法に従って培養し、本発明のポリペプチドを生成蓄積させ、本発明の培養物より本発明のポリペプチドを採取することにより、本発明に係るポリペプチドを製造することができる。

【0347】

本発明の形質転換体を培地に培養する方法は、宿主の培養に用いられる通常の方法に従って行うことができる。大腸菌等の原核生物あるいは酵母等の真核生物を宿主として得られた形質転換体を培養する培地としては、本発明の生物が資化し得る炭素源、窒素源、無機塩類等を含有し、形質転換体の培養を効率的に行える培地であれば天然培地、合成培地のいずれを用いてもよい。

【0348】

炭素源としては、それぞれの微生物が資化し得るものであればよく、グルコース、フラクトース、スクロース、これらを含む糖蜜、デンプンあるいはデンプン加水分解物等の炭水化物、酢酸、プロピオン酸等の有機酸、エタノール、プロパノール等のアルコール類を用いることができる。

【0349】

窒素源としては、アンモニア、塩化アンモニウム、硫酸アンモニウム、酢酸アンモニウム、リン酸アンモニウム等の各種無機酸または有機酸のアンモニウム塩、その他含窒素物質、ならびに、ペプトン、肉エキス、酵母エキス、コーンステープリカー、カゼイン加水分解物、大豆粕および大豆粕加水分解物、各種発酵菌体およびその消化物等を用いることができる。

【0350】

無機塩としては、リン酸第一カリウム、リン酸第二カリウム、リン酸マグネシウム、硫酸マグネシウム、塩化ナトリウム、硫酸第一鉄、硫酸マンガン、硫酸銅、炭酸カルシウム等を用いることができる。培養は、振盪培養または深部通気攪拌培養等の好氣的条件下で行う。

【0351】

培養温度は15～40℃がよく、培養時間は、通常5時間～7日間である。培養中pHは、3.0～9.0に保持する。pHの調整は、無機あるいは有機の酸、アルカリ溶液、尿素、炭酸カルシウム、アンモニア等を用いて行う。また培養中に必要に応じて、アンピシリンまたはテトラサイクリン等の抗生物質を培地に添加してもよい。

【0352】

プロモーターとして誘導性のプロモーターを用いた発現ベクターで形質転換した微生物を培養するときには、必要に応じてインデューサーを培地に添加してもよい。例えば、lacプロモーターを用いた発現ベクターで形質転換した微生物を培養するときにはイソプロピルーβ-D-チオガラクトピラノシド等を、trpプロモーターを用いた発現ベクターで形質転換した微生物を培養するときにはインドールアクリル酸等を培地に添加してもよい。遺伝子を導入した細胞または

器官は、ジャーファーマンターを用いて大量培養することができる。

【0353】

例えば、動物細胞を用いる場合、本発明の細胞を培養する培地は、一般に使用されているRPMI 1640培地 (The Journal of the American Medical Association, 199, 519 (1967))、EagleのMEM培地 (Science, 122, 501 (1952))、DMEM培地 (Virology, 8, 396 (1959))、199培地 (Proceedings of the Society for the Biological Medicine, 73, 1 (1950)) またはこれら培地にウシ胎児血清等を添加した培地等が用いられる。

【0354】

培養は、通常pH 6～8、25～40℃、5%CO₂存在下等の条件下で1～7日間行う。また培養中必要に応じて、カナマイシン、ペニシリン、ストレプトマイシン等の抗生物質を培地に添加してもよい。

【0355】

本発明のポリペプチドをコードする核酸配列で形質転換された形質転換体の培養物から、本発明のポリペプチドを単離または精製するためには、当該分野で周知慣用の通常の酵素の単離または精製法を用いることができる。例えば、本発明のポリペプチドが本発明のポリペプチド製造用形質転換体の細胞外に本発明のポリペプチドが分泌される場合には、その培養物を遠心分離等の手法により処理し、可溶性画分を取得する。その可溶性画分から、溶媒抽出法、硫酸等による塩析法脱塩法、有機溶媒による沈澱法、ジエチルアミノエチル (DEAE) - Sepharose、DIAION HPA-75 (三菱化成) 等樹脂を用いた陰イオン交換クロマトグラフィー法、S-Sepharose FF (Pharmacia) 等の樹脂を用いた陽イオン交換クロマトグラフィー法、ブチルセファロース、フェニルセファロース等の樹脂を用いた疎水性クロマトグラフィー法、分子篩を用いたゲルろ過法、アフィニティークロマトグラフィー法、クロマトフォーカシング法、等電点電気泳動等の電気泳動法等の手法を用い、精製標品を得ることができる。

【0356】

本発明のポリペプチド（例えば、Pep5、p75、Rho GDI、MAG、p21、Rho、Rhoキナーゼまたはその改変体もしくはフラグメントなど）が本発明のポリペプチド製造用形質転換体の細胞内に溶解状態で蓄積する場合には、培養物を遠心分離することにより、培養物中の細胞を集め、その細胞を洗浄した後に、超音波破碎機、フレンチプレス、マントンガウリンホモジナイザー、ダイノミル等により細胞を破碎し、無細胞抽出液を得る。その無細胞抽出液を遠心分離することにより得られた上清から、溶媒抽出法、硫酸等による塩析法脱塩法、有機溶媒による沈澱法、ジエチルアミノエチル（DEAE）-Sepharose、DIAION HPA-75（三菱化成）等樹脂を用いた陰イオン交換クロマトグラフィー法、S-Sepharose FF（Pharmacia）等の樹脂を用いた陽イオン交換クロマトグラフィー法、ブチルセファロース、フェニルセファロース等の樹脂を用いた疎水性クロマトグラフィー法、分子篩を用いたゲルろ過法、アフィニティークロマトグラフィー法、クロマトフォーカシング法、等電点電気泳動等の電気泳動法等の手法を用いることによって、精製標品を得ることができる。

【0357】

本発明のポリペプチドが細胞内に不溶体を形成して発現した場合は、同様に細胞を回収後破碎し、遠心分離を行うことにより得られた沈澱画分より、通常の方法により本発明のポリペプチドを回収後、そのポリペプチドの不溶体をポリペプチド変性剤で可溶化する。この可溶化液を、ポリペプチド変性剤を含まないあるいはポリペプチド変性剤の濃度がポリペプチドが変性しない程度に希薄な溶液に希釈、あるいは透析し、本発明のポリペプチドを正常な立体構造に構成させた後、上記と同様の単離精製法により精製標品を得ることができる。

【0358】

また、通常のタンパク質の精製方法 [J. Evan. Sadlerら: Methods in Enzymology, 83, 458] に準じて精製できる。また、本発明のポリペプチドを他のタンパク質との融合タンパク質として生産し、融合したタンパク質に親和性をもつ物質を用いたアフィニティークロマトグラ

フィーを利用して精製することもできる [山川彰夫, 実験医学 (Experimental Medicine), 13, 469-474 (1995)]。例えば、Loweらの方法 [Proc. Natl. Acad. Sci., USA, 86, 8227-8231 (1989)、Genes Develop., 4, 1288 (1990)] に記載の方法に準じて、本発明のポリペプチドをプロテインAとの融合タンパク質として生産し、イムノグロブリンGを用いるアフィニティークロマトグラフィーにより精製することができる。

【0359】

また、本発明のポリペプチドをFLAGペプチドとの融合タンパク質として生産し、抗FLAG抗体を用いるアフィニティークロマトグラフィーにより精製することができる [Proc. Natl. Acad. Sci., USA, 86, 8227 (1989)、Genes Develop., 4, 1288 (1990)]。このような融合タンパク質では、発現ベクターにおいて、タンパク質分解切断部位は、融合タンパク質の精製に続いて、融合部分からの組換えタンパク質の分離を可能にするために、融合部分と組換えタンパク質との接合部に導入される。このような酵素およびこれらの同族の認識配列は、第Xa因子、トロンビン、およびエンテロキナーゼを含む。代表的な融合発現ベクターとしては、それぞれ、グルタチオン-S-トランスフェラーゼ (GST)、マルトースE結合タンパク質、またはプロテインAを標的組換えタンパク質に融合する、pGEX (Pharmacia Biotech; SmithおよびJohnson (1988) Gene 67, 31~40)、pMAL (New England Biolabs, Beverly, Mass.) およびpRIT5 (Pharmacia, Piscataway, N. J.) が挙げられる。

【0360】

さらに、本発明のポリペプチド自身に対する抗体を用いたアフィニティークロマトグラフィーで精製することもできる。本発明のポリペプチドは、公知の方法 [J. Biomolecular NMR, 6, 129-134、Science, 242, 1162-1164、J. Biochem., 110, 166-168 (1991)] に準じて、in vitro転写・翻訳系を用いて生産す

ることができる。

【0361】

本発明のポリペプチドは、そのアミノ酸情報を基に、Fmoc法（フルオレニルメチルオキシカルボニル法）、tBoc法（tert-ブチルオキシカルボニル法）等の化学合成法によっても製造することができる。また、Advanced ChemTech、Applied Biosystems、Pharmacia Biotech、Protein Technology Instrument、Synthecell-Vega、PerSeptive、島津製作所等のペプチド合成機を利用し化学合成することもできる。

【0362】

精製した本発明のポリペプチドの構造解析は、タンパク質化学で通常用いられる方法、例えば遺伝子クローニングのためのタンパク質構造解析（平野久著、東京化学同人発行、1993年）に記載の方法により実施可能である。本発明のポリペプチドの生理活性は、公知の測定法に準じて測定することができる。

【0363】

本発明において有用な可溶性ポリペプチドの産生もまた、当該分野で公知の種々の方法によって達成され得る。例えば、ポリペプチドは、エキソペプチダーゼ、エンドマン分解またはその両方と組み合わせて特定のエンドペプチダーゼを使用することによるタンパク質分解によって、インタクトな膜貫通p75ポリペプチド分子から誘導され得る。このインタクトなp75ポリペプチド分子は、従来の方法を使用して、その天然の供給源から精製され得る。あるいは、インタクトなp75ポリペプチドは、cDNA、発現ベクターおよび組換え遺伝子発現のための周知技術を利用する組換えDNA技術によって生成され得る。

【0364】

好ましくは、本発明において有用な可溶性ポリペプチドは、直接的に産生され、従って、出発材料としてのp75ポリペプチド全体の必要性を排除する。これは、従来の化学合成技術によって達成され得るか、または周知の組換えDNA技術（ここで、所望のペプチドをコードするDNA配列のみが形質転換された宿主で発現される）によって達成され得る。例えば、所望の可溶性p75ポリペプチ

ドをコードする遺伝子は、オリゴヌクレオチド合成機を使用する化学的手段によって合成され得る。このようなオリゴヌクレオチドは、所望の可溶性 p75 ポリペプチドのアミノ酸配列に基づいて設計される。所望のペプチドをコードする特定の DNA 配列はまた、特定の制限エンドヌクレアーゼフラグメントの単離によってか、または cDNA からの特定の領域の PCR 合成によって、全長 DNA 配列から誘導され得る。

【0365】

(変異型ポリペプチドの作製方法)

本発明のポリペプチド (例えば、Pep5、p75、Rho GDI、MAG、p21、Rho、Rho キナーゼなど) のアミノ酸の欠失、置換もしくは付加 (融合を含む) は、周知技術である部位特異的変異誘発法により実施することができる。かかる 1 もしくは数個のアミノ酸が欠失、置換もしくは付加は、Molecular Cloning, A Laboratory Manual, Second Edition, Cold Spring Harbor Laboratory Press (1989)、Current Protocols in Molecular Biology, Supplement 1~38, John Wiley & Sons (1987-1997)、Nucleic Acids Research, 10, 6487 (1982)、Proc. Natl. Acad. Sci., USA, 79, 6409 (1982)、Gene, 34, 315 (1985)、Nucleic Acids Research, 13, 4431 (1985)、Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 82, 488 (1985)、Proc. Natl. Acad. Sci., USA, 81, 5662 (1984)、Science, 224, 1431 (1984)、PCT WO85/00817 (1985)、Nature, 316, 601 (1985) 等に記載の方法に準じて調製することができる。

【0366】

(免疫化学)

本発明のポリペプチド (例えば、Pep5、p75、Rho GDI、MAG、p21、Rho、Rho キナーゼまたはその改変体もしくはフラグメントなど

)を認識する抗体の作製もまた当該分野において周知である。例えば、ポリクローナル抗体の作製は、取得したポリペプチドの全長または部分断片精製標品、あるいは本発明のタンパク質の一部のアミノ酸配列を有するペプチドを抗原として用い、動物に投与することにより行うことができる。

【0367】

抗体を生産する場合、投与する動物として、ウサギ、ヤギ、ラット、マウス、ハムスター等を用いることができる。その抗原の投与量は動物1匹当たり50～100 μ gが好ましい。ペプチドを用いる場合は、ペプチドをスカシガイヘモシアニン (keyhole limpet haemocyanin) またはウシチログロブリン等のキャリアタンパク質に共有結合させたものを抗原とするのが望ましい。抗原とするペプチドは、ペプチド合成機で合成することができる。その抗原の投与は、1回目の投与の後1～2週間おきに3～10回行う。各投与後、3～7日目に眼底静脈叢より採血し、その血清が免疫に用いた抗原と反応することを酵素免疫測定法 [酵素免疫測定法 (ELISA法): 医学書院刊 1976年、Antibodies—A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Laboratory (1988)] 等で確認する。

【0368】

免疫に用いた抗原に対し、その血清が十分な抗体価を示した非ヒト哺乳動物より血清を取得し、その血清より、周知技術を用いてポリクローナル抗体を分離、精製することができる。モノクローナル抗体の作製もまた当該分野において周知である。抗体産性細胞の調製のために、まず、免疫に用いた本発明のポリペプチドの部分断片ポリペプチドに対し、その血清が十分な抗体価を示したラットを抗体産生細胞の供給源として使用し、骨髓腫細胞との融合により、ハイブリドーマの作製を行う。その後、酵素免疫測定法になどより、本発明のポリペプチドの部分断片ポリペプチドに特異的に反応するハイブリドーマを選択する。このようにして得たハイブリドーマから産生されたモノクローナル抗体は種々の目的に使用することができる。

【0369】

このような抗体は、例えば、本発明のポリペプチドの免疫学的検出方法に使用することができ、本発明の抗体を用いる本発明のポリペプチドの免疫学的検出法としては、マイクロタイタープレートを用いる E L I S A 法・蛍光抗体法、ウェスタンブロット法、免疫組織染色法等を挙げることができる。

【0370】

また、本発明ポリペプチドの免疫学的定量方法にも使用することができる。本発明ポリペプチドの定量方法としては、液相中で本発明のポリペプチドと反応する抗体のうちエピトープが異なる 2 種類のモノクローナル抗体を用いたサンドイッチ E L I S A 法、¹²⁶I 等の放射性同位体で標識した本発明のタンパク質と本発明のタンパク質を認識する抗体とを用いるラジオイムノアッセイ法等を挙げることができる。

【0371】

本発明のポリペプチドの m R N A の定量方法もまた、当該分野において周知である。例えば、本発明のポリヌクレオチドあるいは D N A より調製した上記オリゴヌクレオチドを用い、ノーザンハイブリダイゼーション法または P C R 法により、本発明のポリペプチドをコードする D N A の発現量を m R N A レベルで定量することができる。このような技術は、当該分野において周知であり、本明細書において列挙した文献にも記載されている。

【0372】

当該分野で公知の任意の方法によって、これらのポリヌクレオチドが得られ得、そしてこれらポリヌクレオチドのヌクレオチド配列が、決定され得る。例えば、抗体のヌクレオチド配列が公知である場合、この抗体をコードするポリヌクレオチドは、化学的に合成されたオリゴヌクレオチドからアセンブルされ得（例えば、Kutmeierら、BioTechniques 17:242 (1994) に記載されるように）、これは、手短に言えば、抗体をコードする配列の部分を含むオーバーラップするヌクレオチドの合成、それらのオリゴヌクレオチドのアニーリングおよび連結、ならびに次いで P C R によるこの連結されたオリゴヌクレオチドの増幅を含む。

【0373】

抗体をコードするポリヌクレオチドは、適切な供給源由来の核酸から作製することができる。ある抗体をコードする核酸を含むクローンは入手不可能だが、その抗体分子の配列が既知である場合、免疫グロブリンをコードする核酸は、化学的に合成され得るか、あるいは適切な供給源（例えば、抗体 cDNA ライブラリーまたは抗体を発現する任意の組織もしくは細胞（例えば、本発明の抗体の発現のために選択されたハイブリドーマ細胞）から生成された cDNA ライブラリー、またはそれから単離された核酸（好ましくはポリ A+RNA））から、例えば、抗体をコードする cDNA ライブラリーからの cDNA クローンを同定するために、その配列の 3' 末端および 5' 末端にハイブリダイズ可能な合成プライマーを使用する PCR 増幅によって、またはその特定の遺伝子配列に特異的なオリゴヌクレオチドプローブを使用するクローニングによって得ることができる。PCR によって作製された増幅された核酸は、当該分野で周知の任意の方法を用いて、複製可能なクローニングベクターにクローニングされ得る。

【0374】

一旦、抗体のヌクレオチド配列および対応するアミノ酸配列が決定されると、抗体のヌクレオチド配列は、ヌクレオチド配列の操作について当該分野で周知の方法（例えば、組換え DNA 技術、部位指向性変異誘発、PCR など（例えば、Sambrook ら、1990, Molecular Cloning, A Laboratory Manual, 第2版、Cold Spring Harbor Laboratory, Cold Spring Harbor, NY および Ausubel ら編、1998, Current Protocols in Molecular Biology, John Wiley & Sons, NY に記載の技術を参照のこと。これらは両方がその全体において本明細書に参考として援用される。））を用いて操作され、例えば、アミノ酸の置換、欠失、および／または挿入を生成するように異なるアミノ酸配列を有する抗体を作製し得る。

【0375】

特定の実施形態において、重鎖可変ドメインおよび／または軽鎖可変ドメインのアミノ酸配列は、相補性決定領域（CDR）の配列の同定のために、当該分野

において周知の方法によって（例えば、配列超可変性の領域を決定するために、他の重鎖可変領域および軽鎖可変領域の既知のアミノ酸配列と比較することによって）調べられ得る。慣用的な組換えDNA技術を用いて、1つ以上のCDRが、前述のようにフレームワーク領域内に（例えば、非ヒト抗体をヒト化するために、ヒトフレームワーク領域中に）挿入され得る。このフレームワーク領域は天然に存在し得るか、またはコンセンサスフレームワーク領域であり得、そして好ましくはヒトフレームワーク領域であり得る（例えば、列挙したヒトフレームワーク領域については、Chothiaら、J. Mol. Biol. 278:457-479 (1998) を参照のこと）。好ましくは、フレームワーク領域およびCDRの組み合わせによって生成されたポリヌクレオチドは、本発明のポリペプチドに特異的に結合する抗体をコードする。好ましくは、上記に議論されるように、1つ以上のアミノ酸置換は、フレームワーク領域内で作製され得、そして好ましくは、そのアミノ酸置換は、抗体のその抗原への結合を改善する。さらに、このような方法は、1つ以上の鎖内ジスルフィド結合が欠如した抗体分子を生成するように、鎖内ジスルフィド結合に関与する1つ以上の可変領域のシステイン残基のアミノ酸置換または欠失を作製するために使用され得る。ポリヌクレオチドへの他の変更は、本発明によって、および当該分野の技術において包含される。

【0376】

さらに、適切な抗原特異性のマウス抗体分子由来の遺伝子を、適切な生物学的活性のヒト抗体分子由来の遺伝子と共にスプライシングさせることによって、「キメラ抗体」の産生のために開発された技術（Morrisonら、Proc. Natl. Acad. Sci. 81:851-855 (1984)；Neubergerら、Nature 312:604-608 (1984)；Takedaら、Nature 314:452-454 (1985)）が使用され得る。上記のように、キメラ抗体は、異なる部分が異なる動物種に由来する分子であり、このような分子は、マウスmAbおよびヒト免疫グロブリンの定常領域由来の可変領域を有する（例えば、ヒト化抗体）。

【0377】

単鎖抗体を製造する場合、単鎖抗体の産生に関する記載された公知の技術（米国特許第4,946,778号；Bird、Science 242:423-42（1988）；Houstonら、Proc. Natl. Acad. Sci. USA 85:5879-5883（1988）；およびWardら、Nature 334:544-54（1989））が、利用され得る。単鎖抗体は、Fv領域の重鎖フラグメントおよび軽鎖フラグメントがアミノ酸架橋を介して連結されることによって形成され、単鎖ポリペプチドを生じる。E. coliにおける機能性Fvフラグメントのアセンブリのための技術もまた、使用され得る（Skerraら、Science 242:1038-1041（1988））。

【0378】

（抗体を産生する方法）

本発明の抗体は、抗体の合成のために当該分野で公知の任意の方法によって、化学合成によって、または、好ましくは、組換え発現技術によって産生され得る。

【0379】

本発明の抗体、またはそのフラグメント、誘導体もしくはアナログ（例えば、本発明の抗体の重鎖もしくは軽鎖または本発明の単鎖抗体）の組換え発現は、その抗体をコードするポリヌクレオチドを含有する発現ベクターの構築を必要とする。一旦、本発明の抗体分子または抗体の重鎖もしくは軽鎖、あるいはそれらの部分（好ましくは、重鎖または軽鎖の可変ドメインを含有する）をコードするポリヌクレオチドが得られると、抗体分子の産生のためのベクターは、当該分野で周知の技術を用いる組換えDNA技術によって生成され得る。従って、抗体をコードするヌクレオチド配列を含有するポリヌクレオチドの発現によってタンパク質を調製するための方法は、本明細書に記載される。当業者に周知の方法は、抗体をコードする配列ならびに適切な転写制御シグナルおよび翻訳制御シグナルを含有する発現ベクターの構築のために使用され得る。これらの方法としては、例えば、インビトロの組換えDNA技術、合成技術、およびインビボの遺伝子組換えが挙げられる。従って、本発明は、プロモーターに作動可能に連結された、本

発明の抗体分子、あるいはその重鎖もしくは軽鎖、または重鎖もしくは軽鎖の可変ドメインをコードするヌクレオチド配列を含む、複製可能なベクターを提供する。このようなベクターは、抗体分子の定常領域（例えば、PCT公開 WO 86/05807；PCT公開 WO 89/01036；および米国特許第5,122,464号を参照のこと）をコードするヌクレオチド配列を含み得、そしてこの抗体の可変ドメインは、重鎖または軽鎖の全体の発現のためにこのようなベクターにクローニングされ得る。

【0380】

この発現ベクターは、従来技術によって宿主細胞へと移入され、次いで、このトランスフェクトされた細胞は、本発明の抗体を産生するために、従来技術によって培養される。従って、本発明は、異種プロモーターに作動可能に連結された、本発明の抗体、あるいはその重鎖もしくは軽鎖、または本発明の単鎖抗体をコードするポリヌクレオチドを含む宿主細胞を含む。二重鎖抗体の発現についての好ましい実施形態において、重鎖および軽鎖の両方をコードするベクターは、以下に詳述されるように、免疫グロブリン分子全体の発現のために宿主細胞中に同時発現され得る。

【0381】

本発明の関連した局面において、薬学的組成物（例えば、ワクチン組成物）が、予防適用または治療適用のために提供される。このような組成物は、一般に、本発明の免疫原性ポリペプチドまたはポリヌクレオチドおよび免疫刺激剤（例えば、アジュバント）を含む。

【0382】

本発明の抗体（例えば、モノクローナル抗体）は、標準的な技術（例えば、親和性クロマトグラフィーまたは免疫沈降）によって、本発明のポリペプチドなどを単離するために用いられ得る。ある因子に特異的な抗体は、細胞からの天然の因子、そして宿主細胞において発現される組換え的に産生された因子の精製を容易にし得る。さらに、そのような抗体が、（例えば、細胞の溶解液または細胞上清における）本発明のタンパク質を検出するために用いられ、本発明のタンパク質の発現の存在の量およびパターンを評価し得る。このような抗体は、例えば、

所定の処置レジメンの有効性を決定するために、臨床試験の手順の一部として組織におけるタンパク質レベルを診断的にモニターするために用いられ得る。検出は、抗体を検出可能物質に連結する（すなわち、物理的に連結する）ことにより容易になり得る。検出可能物質の例としては、種々の酵素、補欠分子族、蛍光物質、発光物質、生物発光物質および放射性物質が挙げられる。適切な酵素の例としては、西洋ワサビペルオキシダーゼ、アルカリホスファターゼ、 β -ガラクトシダーゼまたはアセチルコリンエステラーゼが挙げられる；適切な補欠分子族複合体の例としては、ストレプトアビジン／ビオチンおよびアビジン／ビオチンが挙げられる；適切な蛍光物質の例としては、ウンベリフェロン、フルオレセイン、フルオレセインイソチオシアネート、ローダミン、ジクロロトリアジニルアミン (dichlorotriazinylamine) フルオレセイン、ダンシルクロリドまたはフィコエリトリンが挙げられる；発光物質の例としては、ルミノールが挙げられる；生物発光物質の例としては、ルシフェラーゼ、ルシフェリンおよびエクオリンが挙げられ；そして、適切な放射性物質の例としては ^{125}I 、 ^{131}I 、 ^{35}S または ^3H が挙げられるがそれらに限定されない。

【0383】

本発明の別の局面は、哺乳動物において、免疫応答を誘導するに十分な量のポリペプチドをこの哺乳動物に投与することにより本発明のポリペプチドに対する免疫応答を誘導する方法に関する。この量は、動物種、動物の大きさなどに依存するが、当業者により決定され得る。

【0384】

(スクリーニング)

本明細書において「スクリーニング」とは、目的とするある特定の性質をもつ生物または物質などの標的を、特定の操作／評価方法で多数を含む集団の中から選抜することをいう。スクリーニングのために、本発明の因子（例えば、抗体）、ポリペプチドまたは核酸分子を使用することができる。スクリーニングは、インビトロ、インビボなど実在物質を用いた系を使用してもよく、インシリコ（コンピュータを用いた系）の系を用いて生成されたライブラリーを用いてもよい。本発明では、所望の活性を有するスクリーニングによって得られた化合物もまた

、本発明の範囲内に包含されることが理解される。また本発明では、本発明の開示をもとに、コンピュータモデリングによる薬物が提供されることも企図される。

【0385】

1実施形態において、本発明は、本発明のタンパク質または本発明のポリペプチド、あるいはその生物学的に活性な部分に結合するか、またはこれらの活性を調節する、候補化合物もしくは試験化合物をスクリーニングするためのアッセイを提供する。本発明の試験化合物は、当該分野において公知のコンビナトリアルライブラリー法における多数のアプローチの任意のものを使用して得られ得、これには、以下が挙げられる：生物学的ライブラリー；空間的にアクセス可能な平行固相もしくは溶液相ライブラリー；逆重量を要する合成ライブラリー法；「1ビーズ1化合物」ライブラリー法；およびアフィニティークロマトグラフィー選択を使用する合成ライブラリー法。生物学的ライブラリーアプローチはペプチドライブラリーに限定されるが、他の4つのアプローチは、ペプチド、非ペプチドオリゴマーもしくは化合物の低分子ライブラリーに適用可能である (Lam (1997) *Anticancer Drug Des.* 12:145)。

【0386】

分子ライブラリーの合成のための方法の例は、当該分野において、例えば以下に見出され得る：DeWittら (1993) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 90:6909；Erbら (1994) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 91:11422；Zuckermannら (1994) *J. Med. Chem* 37:2678；Choら (1993) *Science* 261:1303；Carrellら (1994) *Angew Chem. Int. Ed. Engl.* 33:2059；Carrellら (1994) *Angew Chem. Int. Ed. Engl.* 33:2061；およびGallopら (1994) *J. Med. Chem* 37:1233。

【0387】

化合物のライブラリーは、溶液中で（例えば、Houghten (1992) *BioTechniques* 13:412～421）、あるいはビーズ上 (L

am (1991) Nature 354:82~84)、チップ上 (Fodor (1993) Nature 364:555~556)、細菌 (Ladner 米国特許第5, 223, 409号)、胞子 (Ladner、上記)、プラスミド (Cullら (1992) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 89:1865~1869) またはファージ上 (ScottおよびSmith (1990) Science 249:386~390; Devlin (1990) Science 249:404~406; Cwirllaら (1990) Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A. 87:6378~6382; Felici (1991) J Mol Biol 222:301~310; Ladner 上記) において示され得る。

【0388】

(神経疾患および再生)

本明細書中に使用される用語「軸索」は、ニューロンからの長い細胞の突出をいう。軸索によって、活動電位が、細胞体へまたは細胞体から伝導される。

【0389】

本明細書中に使用される用語「軸索成長」は、長い突起または軸索の伸長をいう。軸索は、細胞体で発生し、そして成長円錐に続く。

【0390】

本明細書中に使用される用語「成長円錐」は、局所的環境の感知およびその適切なシナプスの標的細胞への軸索の移動を担う、成長する神経突起の先端の特定の領域をいう。

【0391】

本明細書中に使用される用語「成長円錐移動」は、ニューロンの標的細胞へ向かう成長円錐の伸長または崩壊をいう。

【0392】

本明細書中に使用される用語「神経突起」は、ニューロンから成長する突起のことをいう。培養物中で樹状突起と軸索を区別することは時折困難であるので、この用語「神経突起」は、両方に関して使用される。

【0393】

本明細書中に使用される用語「稀突起膠細胞」は、その機能がCNS軸索を有髄化することである中枢神経の神経膠細胞をいう。

【0394】

本明細書において「神経疾患」または「神経学的疾患」とは、本明細書において同義で用いられ、神経の機能、構造、器官などの断絶、停止、または障害をいい、通常、次の基準のうち少なくとも2つを満たす病変をいう：1) 病因物質をもつこと；2) はっきりと指摘できる徴候および／または症候群があること；3) 一致した解剖学的変化があること。神経疾患としては、例えば、脳血管障害（脳出血、くも膜下出血、脳梗塞、一過性脳虚血発作、脳動脈硬化症、Binswanger病、脳静脈洞血栓・脳静脈血栓、高血圧性脳症、側頭動脈炎、一過性全健忘、もやもや病、線維筋性形成異常症、内頸動脈海綿静脈洞瘻、慢性硬膜下血腫、アミロイドアンギオパチー（Alzheimer病参照）など）；脊髓血管障害（例えば、脊髓梗塞、一過性脊髓虚血、脊髓出血、脊髓血管奇形、脊髓くも膜下出血、亜急性壊死性脊髓炎など）；感染性・炎症性疾患（例えば、髄膜炎、脳炎、単純ヘルペス脳炎、日本脳炎、その他の脳炎、狂犬病、遅発性ウイルス感染症（例えば、亜急性硬化性全脳炎、進行性多巣性白質脳症、Creutzfeldt-Jakob病など）、神経Behcet病、小舞蹈病、AIDS痴呆症候群、神経梅毒、脳膿瘍、脊髓硬膜外膿瘍、HTLV-I関連ミエロパチー、ポリオ）；脱髄疾患（多発性硬化症、急性散在性脳脊髓炎、Baló同心円硬化症、炎症性汎発性硬化症、白質ジストロフィー、異染性白質ジストロフィー、Krabbe病、副腎白質ジストロフィー、Canavan病（白質ジストロフィー）、Pelizaeus-Merzbacher病（白質ジストロフィー）、Alexander病（白質ジストロフィー）など）；痴呆性疾患（Alzheimer病、Alzheimer型老年痴呆、Pick病、脳血管性痴呆、Creutzfeldt-Jakob病、Parkinson痴呆複合、正常圧水頭症、進行性核上性麻痺など）；基底核変性疾患（例えば、Parkinson病、症候性parkinsonism、進行性核上性麻痺、線条体黒質変性症、Parkinson痴呆複合、Huntington病、本態性振戦、アテトーゼ、ジストニー症候群（例えば、特発性捻転ジストニー、局所性ジストニー（痙性

斜頸、書痙、Meige症候群など）、症候性ジストニー（Hallervorden-Spatz病、薬剤性ジストニーなど）、Gilles、de、la、Tourette症候群など）；脊髄小脳変性疾患（例えば、脊髄小脳変性症（Shy-Drager症候群、Machado-Joseph病など）、Louis-Bar症候群、Bassen-Kornzweig症候群、Refsum病、他の小脳失調症など）；運動ニューロン疾患（例えば、筋萎縮性側索硬化症、進行性球麻痺（筋萎縮性側索硬化症参照）、家族性筋萎縮性側索硬化症、Werdnig-Hoffmann病、Kugelberg-Welander病、球脊髄性筋萎縮症、若年性一側上肢筋萎縮症など）；脳・脊髄の腫瘍性疾患（例えば、頭蓋内腫瘍、脊髄腫瘍、髄膜癌腫症など）；機能性疾患（例えば、てんかん、慢性頭痛、失神（失神参照）、特発性頭蓋内圧亢進症、Meniere病、ナルコレプシー、Kleine-Levin症候群など）；中毒・代謝性疾患（例えば、薬物中毒（フェノチアジン系向精神薬中毒、鎮静・催眠薬中毒、抗生物質中毒、抗Parkinson病薬、抗癌薬中毒、 β 遮断薬中毒、Ca拮抗薬中毒、クロフィブラート中毒、制吐薬中毒、スモン、サリチル酸中毒、ジギタリス中毒、麻薬中毒など）、慢性アルコール中毒（Wernicke脳症、Marchiafava-Bignami症候群、橋中心髄鞘崩壊症など）、有機溶剤中毒、農薬中毒（例えば、有機リン剤中毒、カーバメイト剤中毒、クロルピクリン中毒、パラコート中毒など）、有機リン系神経ガス中毒、一酸化炭素中毒、硫化水素中毒、シアン化物中毒、水銀中毒（金属水銀中毒、無機水銀中毒、有機水銀中毒など）、鉛中毒、四エチル鉛中毒、ヒ素中毒、カドミウム中毒、クロム中毒、マンガン中毒、金属熱、睡眠薬・鎮静薬中毒、サリチル酸中毒、ジギタリス中毒、麻薬中毒、食中毒（例えば、自然毒食中毒（フグ中毒、麻痺性貝毒食中毒、下痢性貝毒食中毒、シガテラ、キノコ中毒、ジャガイモ中毒など）、ビタミン欠乏症（ビタミンA欠乏症、ビタミンB1欠乏症、ビタミンB2欠乏症、ペラグラ、壊血病、ビタミン依存症）、リピードシス（Gaucher病、Niemann-Pick病など）、先天性アミノ酸代謝異常、Wilson病、アミロイドシスなど）；先天奇形（Arnold-Chiari奇形、Klippel-Feil症候群、頭蓋底陥入症、脊髄空洞症）；神経・皮膚症候群（例えば、

母斑症、von-Recklinghausen病、結節性硬化症、Sturge-Weber病、von Hippel-Lindau病など）；脊椎疾患（変形性脊椎症、椎間板ヘルニア、後縦靱帯骨化症など）などが挙げられるがそれらに限定されない。

【0395】

本明細書において「神経障害」とは、神経の機能、構造、あるいは両方の障害で、発育における遺伝、発生上の欠陥、または毒素、外傷、疾病など外因性要因に起因するものをいう。そのような神経障害としては、例えば、末梢神経障害、糖尿病性神経障害などが挙げられるがそれらに限定されない。末梢神経は各種の原因で障害されるが、原因のいかんを問わずすべての末梢神経の障害は、総称して神経障害（ニューロパシー）と呼ばれる。神経障害の原因としては、例えば、遺伝、感染、中毒、代謝障害、アレルギー、膠原病、癌、血管障害、外傷、機械的圧迫、腫瘍などが挙げられるがそれらに限定されない。神経障害の原因は、臨床では特定されないことがあるが、本発明の処置の対象にはそのような原因不明の神経障害も包含される。神経障害としては、実質性神経障害および間質性神経障害が挙げられるがそれらに限定されない。実質性神経障害とは、末梢神経の実質であるニューロン、シュワン細胞および髄鞘の少なくとも1つに病因が作用し、病変が現れたものをいい、間質性神経障害とは、間質に作用して障害が現れるものであり、物理的圧迫、血管性病変（結節性動脈周囲炎、膠原病など）、炎症反応、肉芽組織（例えば、癩結節、サルコイドーシスなど）による障害が挙げられるがそれらに限定されない。ニューロン全体の代謝が障害を受けると、ニューロンの末梢部から変性し、神経細胞に向けて変性が進行し、最終的に神経細胞が萎縮する（逆行性死滅神経障害）。神経障害の症候としては、運動障害、知覚障害、筋力低下、筋萎縮、反射低下、自律神経障害、およびそれらの組み合わせなどが挙げられる。本発明は、このような神経障害の処置、予防などにも有効である。

【0396】

本明細書において「神経の状態」とは、神経の健全度を示す度合いをいう。そのような状態は、種々のパラメータによって表すことができる。本発明により、

Pep5、p75、Rho GDI、GTLb、MAG、p21などを測定することにより神経の状態が判定できるようになった。

【0397】

本明細書中に使用される用語「中枢神経系障害」は、中枢神経系（CNS）の異常な機能に関連する任意の病理学的状態をいう。この用語は、脳組織に対する物理的外傷、ウイルス感染、自己免疫機構および遺伝的変異から生じる、変化された中枢神経系機能を含むが、これに限定されない。

【0398】

本明細書中に使用される用語「脱髄性疾患」は、稀突起膠細胞の細胞膜のミエリン鞘の変性によって特徴付けられる病理学的障害をいう。

【0399】

本発明の分子および方法を使用して処置され得る例示的疾患、障害および損傷（状態）としては、大脳損傷、脊髄損傷、発作、脱髄疾患（例えば、多発性硬化症）、単語症脱髄、脳脊髄炎、多病巣性白質脳症、汎脳炎、マルキアファークービニャーミ病、海綿状変性、アレグザンダー病、キャナヴァン病、異染色性白質萎縮症およびクラッペ病が挙げられるがそれらに限定されない。

【0400】

本明細書において「再生」とは、損傷した組織ないし臓器が元通りに回復することをいい、病理的再生ともいう。生物の体は一生の間に外傷や病気によって臓器の一部を失ったり、大きな傷害を受けたりする。その場合、損傷した臓器が再生できるか否かは、臓器によって（または動物種によって）異なる。自然には再生できない臓器（または組織）を再生させ、機能を回復させようというのが再生医学である。組織が再生したかどうかは、その機能が改善したかにどうかによって判定することができる。哺乳動物は、組織・器官（臓器）を再生する力のある程度備えている（例えば、皮膚、肝臓および血液の再生）。しかし、心臓、肺、脳などの臓器、中枢神経などの組織は再生能力に乏しく、一旦損傷すると、その機能を再生させることができないと考えられてきた。従って、従来であれば、例えば、臓器が損傷した場合、臓器移植による処置しかほとんど有効な措置がなく、移植では処置できない中枢神経などの場合は、有効な処置がないに等しい状態

であった。従って、本明細書において「再生に有効な量」とは、神経の再生において、有効であると認められる程度の量をいう。

【0401】

本明細書において「神経の再生」とは、損傷したかあるいは消失した神経が回復することをいう。従来、成体では特に中枢神経の再生は不可能とされており、いったん神経が機能を損なうと、その再生は困難であった。ここで、神経が再生したかどうかは、運動能力、感覚の評価、組織において神経軸索の再生を評価することなどによって確認することができる。

【0402】

本明細書において「予防（する）」は、生物が病気にかかる（c o N T R a c t）かまたは異常な状態を発生する可能性を減少させることをいう。

【0403】

本明細書において「処置（する）」は、治療効果を有すること、および生物における異常な状態を少なくとも部分的に軽減するかまたは抑止することをいう。

【0404】

本明細書において「治療効果」は、異常な状態を引き起こすかまたはこれに寄与する阻害因子または活性化因子をいう。治療効果は、異常な状態の症状の1つ以上をある程度緩和する。異常な状態の処置に関して、治療効果とは、以下の1つ以上をいい得る：（a）細胞の増殖（p r o l i f e r a t i o n）、増殖（g r o w t h）、および／または分化における増加；（b）細胞死の阻害（すなわち、遅らせることまたは停止させること）；（c）変性の阻害；（d）異常な状態に関連する症状の1つ以上をある程度緩和する；および（e）罹患した細胞集団の機能を強化すること。異常な状態に対する効力を示す化合物は、本明細書中に記載されるように同定され得る。

【0405】

本明細書において「異常な状態」は、生物におけるその正常な機能から逸脱する、生物の細胞または組織における機能をいう。異常な状態は、細胞増殖、細胞分化、細胞シグナル伝達、または細胞生存に関連し得る。異常な状態としてはまた、神経伝達における異常、肥満、網膜変性のような糖尿病合併症、ならびにグ

ルコースの取り込みおよび代謝における不規則性、ならびに脂肪酸の取り込みおよび代謝における不規則性が挙げられ得る。

【0406】

異常な細胞増殖状態としては、例えば、神経細胞の異常増殖、線維症およびメサングウム障害のような癌、異常な新脈管形成および脈管形成、創傷治癒、乾癬、糖尿病および炎症が挙げられる。

【0407】

異常な分化状態としては、例えば、神経変性障害、緩徐な創傷治癒速度および緩徐な組織移植片治癒速度が挙げられる。

【0408】

異常な細胞シグナル伝達状態としては、例えば、過度の神経伝達物質活性を含む精神障害が挙げられる。

【0409】

異常な細胞生存状態はまた、アポトーシス（プログラム細胞死）経路が活性化されるかまたは抑止される状態に関連する。多数のタンパク質キナーゼが、アポトーシス経路に関連している。タンパク質キナーゼのいずれか1つの機能における異常は、細胞不死または未熟な細胞死を生じ得る。

【0410】

本発明は、神経疾患、障害または異常状態のある（罹患しているおそれのある）被験体または上記障害を有する被験体を処置する、予防的方法および治療的方法の両方を提供する。

【0411】

レベルまたは生物学的活性の増加（疾患または障害を罹患しない被験体と比較して）によって特徴付けられる疾患および障害は、活性をアンタゴナイズする（すなわち、減少または阻害する）治療剤で処置され得る。活性をアンタゴナイズする治療剤は、治療様式または予防様式において投与され得る。利用され得る治療剤としては、限定されないが、以下が挙げられる；（i）p75シグナル伝達経路における伝達因子（例えば、ポリペプチド）、またはそのアナログ、誘導体、フラグメントもしくはホモログ；（ii）p75シグナル伝達経路における伝

達因子に対する抗体；(iii) p75シグナル伝達経路における伝達因子をコードする核酸（因子がポリペプチドの場合）；(iv) アンチセンス核酸および「機能障害性」（すなわち、p75シグナル伝達経路における伝達因子（ポリペプチドである場合）に対するコード配列のコード配列内における異種挿入に起因する）の核酸（例えば、RNAi）の投与は、相同組換えによるp75シグナル伝達経路における伝達因子の「ノックアウト」内在性機能に利用される（例えば、Capecci (1989) Science 244, 1288-1292を参照のこと）；あるいは(v) p75シグナル伝達経路における伝達因子とその結合パートナーとの間の相互作用を調節する因子（すなわち、インヒビター、アゴニストおよびアンタゴニスト（本発明のさらなるペプチド模倣物または本発明のペプチドに特異的な抗体を含む））。

【0412】

レベルまたは生物学的活性の減少（疾患または障害を罹患していない被験体と比較して）によって特徴付けられる疾患または障害は、活性を増加させる（すなわち、アゴニストである）治療剤で処置され得る。活性を上方制御する治療剤は、治療様式または予防様式で投与され得る。利用され得る治療剤としては、限定されないが、p75シグナル伝達経路における伝達因子、またはそのアナログ、誘導体、フラグメントまたはホモログ；あるいはバイアベラビリティを増大させるアゴニストが挙げられる。

【0413】

レベルの増加または減少は、ペプチドおよび／またはRNAを定量することによって、患者組織サンプル（例えば、生検組織から）を得てRNAまたはペプチドのレベル、発現したペプチド（またはp75シグナル伝達経路における伝達因子のmRNA）の構造および／または活性に関してインビトロで上記サンプルをアッセイすることによって、容易に検出され得る。当該分野で周知の方法としては、限定されないが、免疫アッセイ（例えば、ウエスタンブロット分析、免疫沈降後のドデシル硫酸ナトリウム（SDS）ポリアクリルアミドゲル電気泳動、免疫組織化学などによって）、および／またはmRNAの発現を検出するためのハイブリダイゼーションアッセイ（例えば、ノーザンアッセイ、ドットブロット、

インサイチュハイブリダイゼーションなど) が挙げられる。

【0414】

本発明はまた、p 7 5 シグナル伝達経路における伝達因子の発現または少なくとも1つの p 7 5 シグナル伝達経路における伝達因子の活性を調節する薬剤を被験体に投与することによって、被験体において、異常な p 7 5 シグナル伝達経路における伝達因子の発現または p 7 5 シグナル伝達経路における伝達因子の活性に関連する疾患または状態を予防するための方法を提供する。異常な p 7 5 シグナル伝達経路における伝達因子の発現または p 7 5 シグナル伝達経路における伝達因子の活性によって引き起こされるかまたは寄与される疾患に対するリスクのある被験体は、例えば、本明細書中に記載されるような診断アッセイまたは予後アッセイのいずれかまたは組み合わせによって同定され得る。予防剤の投与は、p 7 5 シグナル伝達経路における伝達因子の異常に特徴的な症状の出現の前に行い得、その結果、疾患または障害が予防されるか、またはその進行を遅らせる。p 7 5 シグナル伝達経路における伝達因子の異常の型に基づいて、例えば、p 7 5 シグナル伝達経路における伝達因子のアゴニスト薬剤または p 7 5 シグナル伝達経路における伝達因子のアンタゴニスト薬剤が、被験体を処置するために使用され得る。適切な薬剤は、本明細書中で記載されるスクリーニングアッセイに基づいて決定され得る。

【0415】

本発明はまた、治療目的のための p 7 5 シグナル伝達経路における伝達因子の発現または活性を調節する方法に関する。本発明の調節法は、細胞を、細胞と関連する p 7 5 シグナル伝達経路における伝達因子の活性の1つ以上の活性を調節する薬剤と接触させる工程を包含する。p 7 5 シグナル伝達経路における伝達因子の活性を調節する薬剤は、本明細書中で記載されるような薬剤であり得、例えば、核酸またはタンパク質、p 7 5 シグナル伝達経路における伝達因子の天然に存在する同族リガンド、ペプチド、p 7 5 シグナル伝達経路における伝達因子のペプチド模倣物、または他の低分子であり得る。1つの実施形態において、薬剤は、1つ以上の p 7 5 シグナル伝達経路における伝達因子の活性を刺激する。このような刺激剤の例としては、活性 p 7 5 シグナル伝達経路における伝達因子お

よび細胞中に導入された p 7 5 シグナル伝達経路における伝達因子をコードする核酸分子が挙げられる。別の実施形態において、薬剤は、1つ以上の p 7 5 シグナル伝達経路における伝達因子活性を阻害する。このような阻害剤の例としては、アンチセンス p 7 5 シグナル伝達経路における伝達因子核酸分子および抗 (p 7 5 シグナル伝達経路における伝達因子) 抗体が挙げられる。これらの調節方法は、インビトロで (例えば、細胞を薬剤とともに培養することによって)、あるいはインビボで (例えば、薬剤を被験体に投与することによって) 実行され得る。このように、本発明は、p 7 5 シグナル伝達経路における伝達因子 (例えば、ポリペプチド) またはそれをコードする核酸分子の異常発現または異常活性によって特徴付けられる疾患または障害に悩まされる個々を処置する方法を提供する。1つの実施形態において、本方法は、薬剤 (例えば、本明細書に記載されるスクリーニングアッセイによって同定される薬剤)、または p 7 5 シグナル伝達経路における伝達因子発現または p 7 5 シグナル伝達経路における伝達因子活性を調節する (例えば、上方制御または下方制御する) 薬剤の組み合わせを投与する工程を包含する。別の実施形態において、本方法は、減少した p 7 5 シグナル伝達経路における伝達因子発現もしくは活性または異常な p 7 5 シグナル伝達経路における伝達因子発現もしくは活性を補うための治療として、p 7 5 シグナル伝達経路における伝達因子またはそれをコードする核酸分子を投与する工程を包含する。

【0416】

(遺伝子治療)

特定の実施形態において、本発明の正常な遺伝子の核酸配列、抗体またはその機能的誘導体をコードする配列を含む核酸は、本発明のポリペプチドの異常な発現および/または活性に関連した疾患または障害を処置、阻害または予防するために、遺伝子治療の目的で投与される。遺伝子治療とは、発現されたか、または発現可能な核酸の、被験体への投与により行われる治療をいう。本発明のこの実施形態において、核酸は、それらのコードされたタンパク質を産生し、そのタンパク質は治療効果を媒介する。

【0417】

当該分野で利用可能な遺伝子治療のための任意の方法が、本発明に従って使用され得る。例示的な方法は、以下のとおりである。

【0418】

遺伝子治療の方法の一般的な概説については、Goldspielら, *Clinical Pharmacy* 12:488-505 (1993); WuおよびWu, *Biotherapy* 3:87-95 (1991); Tolstoshev, *Ann. Rev. Pharmacol. Toxicol.* 32:573-596 (1993); Mulligan, *Science* 260:926-932 (1993); ならびにMorganおよびAnderson, *Ann. Rev. Biochem.* 62:191-217 (1993); May, *TIB TECH* 11(5):155-215 (1993) を参照のこと。遺伝子治療において使用される一般的に公知の組換えDNA技術は、Ausubelら(編), *Current Protocols in Molecular Biology*, John Wiley & Sons, NY (1993); およびKriegler, *Gene Transfer and Expression, A Laboratory Manual*, Stockton Press, NY (1990) に記載される。

【0419】

したがって、本発明では、Pep5、p75、Rho GDI、MAG、p21、Rho、Rhoキナーゼまたはその改変体もしくはフラグメントなどをコードする核酸分子を用いた遺伝子治療が有用であり得る。

【0420】

本明細書において「形質」および「表現型」という用語は、本明細書では同義に用いられ、生物の可視的な性質、検出可能な性質またはこれ以外の場合における測定可能な性質すべてを意味するものであり、一例として疾患の徴候または疾患に対する感受性があげられる。本明細書では通常、「形質」または「表現型」という用語は、乳房に関する疾患(例えば、乳がん)、肥満または肥満に関連した障害、特に、アテローム性動脈硬化症、インスリン抵抗性、高血圧症、2型糖尿病の肥満個体における細小血管障害、II型糖尿病の肥満個体における細小血管

障害に関連した眼病変、またはII型糖尿病の肥満個体における細小血管障害に関連した腎病変の症状またはこれらに対する罹患性を示すときに用いられ得る。

【0421】

本明細書において「遺伝子型」という用語は、ある生物個体の遺伝子の構成をいい、しばしば個体または試料中に存在する対立遺伝子を意味することがある。試料または個体の「遺伝子型を判定する」という表現は、個体の特定の遺伝子の配列を解析することを包含する。

【0422】

本明細書において「多型」という用語は、異なるゲノムまたは個体間で2以上の選択的ゲノム配列または対立遺伝子が出現することを示すために用いられる。

「多型(の)」という表現は、特定のゲノム配列の2以上の変異体が個体群に見出される可能性がある状態を示す。「多型部位」は、そのような変異が発生する遺伝子座である。単一ヌクレオチド多型(SNPs)は、多型部位で1つのヌクレオチドが別のヌクレオチドに置換されたものである。1つのヌクレオチドの欠失または1つのヌクレオチドの挿入によっても単一ヌクレオチド多型が生じる。本明細書において「単一ヌクレオチド多型」は、1つのヌクレオチドの置換を示すものであることが好ましい。一般に、異なる個体間では、多型部位を2つの異なるヌクレオチドが占めている場合がある。本発明では、p75、RhogD、MAG、Rhog、Rhogキナーゼなどの多型もまた、神経疾患に関連すると考えられることから、1つの実施形態では、このような多型の分析によって同定された対立遺伝子を用いることが神経の、再生、予防、診断、治療または予後に有効であり得る。

【0423】

本明細書中で使用され、かつ、当該分野で理解されるように、用語「合成(synthesis)」または「合成する(synthesize)」とは、酵素的方法とは対照的に、純粋に化学的に生成された化学物質(例えば、ポリヌクレオチド、ポリペプチドなど)をいう。従って、「全体が」(globally)合成された化学物質(例えば、ポリヌクレオチド、ポリペプチドなど)は、その全体が化学的手段によって生成され、そして「部分的に」合成された化学物質(

例えば、ポリヌクレオチド、ポリペプチドなど)は、その得られた化学物質(例えば、ポリヌクレオチド、ポリペプチドなど)の一部分のみが化学的手段によって生成された化学物質(例えば、ポリヌクレオチド、ポリペプチドなど)を包含する。

【0424】

本明細書において使用される用語「領域」によって、生体分子の一次構造の物理的に連続した部分を意味する。タンパク質の場合、領域は、そのタンパク質のアミノ酸配列の連続した部分によって定義される。用語「ドメイン」は、本明細書中で、生体分子の既知の機能または推測されている機能に寄与する、その生体分子の構造部分をいうものとして定義される。ドメインは、領域またはその部分と同じ広がりをも有し得；ドメインはまた、その領域の全てまたは一部に加えて、特定の領域と区別される生体分子の一部を組み込み得る。本発明の p 75 シグナル伝達におけるタンパク質のドメインの例としては、シグナルペプチド、細胞外(すなわち、N末端)ドメイン、ロイシンリッチ反復ドメインが挙げられるが、これらに限定されない。

【0425】

(治療活性または予防活性の証明)

本発明の化合物または薬学的組成物は、好ましくは、ヒトでの使用の前にインビトロで、そして次いでインビボで、所望の治療活性または予防活性について試験される。例えば、化合物または薬学的組成物の、治療有用性または予防有用性を証明するためのインビトロアッセイとしては、細胞株または患者組織サンプルに対する化合物の効果が挙げられる。細胞株および／または組織サンプルに対する化合物または組成物の効果は、当業者に公知である技術(細胞溶解アッセイが挙げられるがこれらに限定されない)を利用して決定され得る。本発明に従って、特定の化合物の投与が示されるか否かを決定するために用いられ得るインビトロアッセイとしては、インビトロ細胞培養アッセイが挙げられ、このアッセイでは、患者組織サンプルが培養物において増殖し、そして化合物に曝されるか、そうでなければ化合物が投与され、そして、組織サンプルに対するそのような化合物の効果が観察される。

【0426】

(治療的／予防的な投与および組成物)

本発明は、被験体への有効量の本発明の化合物または薬学的組成物の投与による処置、阻害および予防の方法を提供する。好ましい局面において、化合物は実質的に精製されたものであり得る（例えば、その効果を制限するかまたは望ましくない副作用を生じる物質が実質的に存在しない状態が挙げられる）。

【0427】

本明細書において「診断、予防、処置または予後上有効な量」とは、それぞれ、診断、予防、処置（または治療）または予後において、医療上有効であると認められる程度の量をいう。このような量は、当該分野において周知の技法を用いて当業者が種々のパラメータを参酌しながら決定することができる。

【0428】

本発明が対象とする動物は、神経系または類似の系を有するものであれば、どの生物（例えば、動物（たとえば、脊椎動物、無脊椎動物））でもよい。好ましくは、脊椎動物（たとえば、メクラウナギ類、ヤツメウナギ類、軟骨魚類、硬骨魚類、両生類、爬虫類、鳥類、哺乳動物など）であり、より好ましくは、哺乳動物（例えば、単孔類、有袋類、貧歯類、皮翼類、翼手類、食肉類、食虫類、長鼻類、奇蹄類、偶蹄類、管歯類、有鱗類、海牛類、クジラ目、霊長類、齧歯類、ウサギ目など）であり得る。例示的な被験体としては、例えば、ウシ、ブタ、ウマ、ニワトリ、ネコ、イヌなどの動物が挙げられるがそれらに限定されない。さらに好ましくは、霊長類（たとえば、チンパンジー、ニホンザル、ヒト）由来の細胞が用いられる。最も好ましくはヒト由来の細胞が用いられる。

【0429】

本発明の核酸分子またはポリペプチドが医薬として使用される場合、そのような組成物は、薬学的に受容可能なキャリアなどをさらに含み得る。本発明の医薬に含まれる薬学的に受容可能なキャリアとしては、当該分野において公知の任意の物質が挙げられる。

【0430】

そのような適切な処方材料または薬学的に受容可能なキャリアとしては、抗酸

化剤、保存剤、着色料、風味料、および希釈剤、乳化剤、懸濁化剤、溶媒、フィルター、増量剤、緩衝剤、送達ビヒクル、希釈剤、賦形剤および／または薬学的アジュバントが挙げられるがそれらに限定されない。代表的には、本発明の医薬は、Pep 5、p 75、Rho GDI、MAG、p 21、Rho、Rho キナーゼまたはその改変体もしくはフラグメントなどのポリペプチドまたはポリヌクレオチド、またはその改変体もしくは誘導体を、1つ以上の生理的に受容可能なキャリア、賦形剤または希釈剤とともに含む組成物の形態で投与される。例えば、適切なビヒクルは、注射用水、生理的溶液、または人工脳脊髄液であり得、これらには、非経口送達のための組成物に一般的な他の物質を補充することが可能である。

【0431】

本明細書で使用される受容可能なキャリア、賦形剤または安定化剤は、レシピエントに対して非毒性であり、そして好ましくは、使用される投薬量および濃度において不活性であり、例えば、リン酸塩、クエン酸塩、または他の有機酸；アスコルビン酸、 α -トコフェロール；低分子量ポリペプチド；タンパク質（例えば、血清アルブミン、ゼラチンまたは免疫グロブリン）；親水性ポリマー（例えば、ポリビニルピロリドン）；アミノ酸（例えば、グリシン、グルタミン、アスパラギン、アルギニンまたはリジン）；モノサッカリド、ジサッカリドおよび他の炭水化物（グルコース、マンノース、またはデキストリンを含む）；キレート剤（例えば、EDTA）；糖アルコール（例えば、マンニトールまたはソルビトール）；塩形成対イオン（例えば、ナトリウム）；ならびに／あるいは非イオン性表面活性化剤（例えば、Tween、プルロニック（pluronic）またはポリエチレングリコール（PEG））などが挙げられるがそれらに限定されない。

【0432】

例示の適切なキャリアとしては、中性緩衝化生理食塩水、または血清アルブミンと混合された生理食塩水が挙げられる。好ましくは、その生成物は、適切な賦形剤（例えば、スクロース）を用いて凍結乾燥剤として処方される。他の標準的なキャリア、希釈剤および賦形剤は所望に応じて含まれ得る。他の例示的な組成

物は、pH 7.0-8.5のTris緩衝剤またはpH 4.0-5.5の酢酸緩衝剤を含み、これらは、さらに、ソルビトールまたはその適切な代替物を含み得る。

【0433】

以下に本発明の医薬組成物の一般的な調製法を示す。なお、動物薬組成物、医薬部外品、水産薬組成物、食品組成物および化粧品組成物等についても公知の調製法により製造することができる。

【0434】

本発明のポリペプチド、ポリヌクレオチドなどは、薬学的に受容可能なキャリアと配合し、錠剤、カプセル剤、顆粒剤、散剤、粉剤、座剤等の固形製剤、またはシロップ剤、注射剤、懸濁剤、溶液剤、スプレー剤等の液状製剤として経口または非経口的に投与することができる。薬学的に受容可能なキャリアとしては、上述のように、固形製剤における賦形剤、滑沢剤、結合剤、崩壊剤、崩壊阻害剤、吸収促進剤、吸着剤、保湿剤、溶解補助剤、安定化剤、液状製剤における溶剤、溶解補助剤、懸濁化剤、等張化剤、緩衝剤、無痛化剤等が挙げられる。また、必要に応じ、防腐剤、抗酸化剤、着色剤、甘味剤等の製剤添加物を用いることができる。また、本発明の組成物には本発明のポリヌクレオチド、ポリペプチドなど以外の物質を配合することも可能である。非経口の投与経路としては、静脈内注射、筋肉内注射、経鼻、直腸、膣および経皮等が挙げられるがそれらに限定されない。

【0435】

固形製剤における賦形剤としては、例えば、グルコース、ラクトース、スクロース、D-マンニトール、結晶セルロース、デンプン、炭酸カルシウム、軽質無水ケイ酸、塩化ナトリウム、カオリンおよび尿素等が挙げられる。

【0436】

固形製剤における滑沢剤としては、例えば、ステアリン酸マグネシウム、ステアリン酸カルシウム、ホウ酸末、コロイド状ケイ酸、タルクおよびポリエチレングリコール等が挙げられるがそれらに限定されない。

【0437】

固形製剤における結合剤としては、例えば、水、エタノール、プロパノール、白糖、D-マンニトール、結晶セルロース、デキストリン、メチルセルロース、ヒドロキシプロピルセルロース、ヒドロキシプロピルメチルセルロース、カルボキシメチルセルロース、デンプン溶液、ゼラチン溶液、ポリビニルピロリドン、リン酸カルシウム、リン酸カリウム、およびシェラック等が挙げられる。

【0438】

固形製剤における崩壊剤としては、例えば、デンプン、カルボキシメチルセルロース、カルボキシメチルセルロースカルシウム、カンテン末、ラミナラン末、クロスカルメロースナトリウム、カルボキシメチルスターチナトリウム、アルギン酸ナトリウム、炭酸水素ナトリウム、炭酸カルシウム、ポリオキシエチレンソルビタン脂肪酸エステル類、ラウリル硫酸ナトリウム、デンプン、ステアリン酸モノグリセリド、ラクトースおよび繊維素グリコール酸カルシウム等が挙げられるがそれらに限定されない。

【0439】

固形製剤における崩壊阻害剤の好適な例としては、水素添加油、白糖、ステアリン、カカオ脂および硬化油等が挙げられるがそれらに限定されない。

【0440】

固形製剤における吸収促進剤としては、例えば、第四級アンモニウム塩基類およびラウリル硫酸ナトリウム等が挙げられるがそれらに限定されない。

【0441】

固形製剤における吸着剤としては、例えば、デンプン、ラクトース、カオリン、ベントナイトおよびコロイド状ケイ酸等が挙げられるがそれらに限定されない。

【0442】

固形製剤における保湿剤としては、例えば、グリセリン、デンプン等が挙げられるがそれらに限定されない。

【0443】

固形製剤における溶解補助剤としては、例えば、アルギニン、グルタミン酸、アスパラギン酸等が挙げられるがそれらに限定されない。

【0444】

固形製剤における安定化剤としては、例えば、ヒト血清アルブミン、ラクトース等が挙げられるがそれらに限定されない。

【0445】

固形製剤として錠剤、丸剤等を調製する際には、必要により胃溶性または腸溶性物質（白糖、ゼラチン、ヒドロキシプロピルセルロース、ヒドロキシプロピルメチルセルロースフタレート等）のフィルムで被覆していてもよい。錠剤には、必要に応じ通常の剤皮を施した錠剤、例えば、糖衣錠、ゼラチン被包錠、腸溶被錠、フィルムコーティング錠あるいは二重錠、多層錠が含まれる。カプセル剤にはハードカプセルおよびソフトカプセルが含まれる。座剤の形態に成形する際には、上記に列挙した添加物以外に、例えば、高級アルコール、高級アルコールのエステル類、半合成グリセライド等を添加することができるがそれらに限定されない。

【0446】

液状製剤における溶剤の好適な例としては、注射用水、アルコール、プロピレングリコール、マクロゴール、ゴマ油およびトウモロコシ油等が挙げられる。

【0447】

液状製剤における溶解補助剤の好適な例としては、ポリエチレングリコール、プロピレングリコール、D-マンニトール、安息香酸ベンジル、エタノール、トリシアミノメタン、コレステロール、トリエタノールアミン、炭酸ナトリウムおよびクエン酸ナトリウム等が挙げられるがそれらに限定されない。

【0448】

液状製剤における懸濁化剤の好適な例としては、ステアリルトリエタノールアミン、ラウリル硫酸ナトリウム、ラウリルアミノプロピオン酸、レシチン、塩化ベンザルコニウム、塩化ベンゼトニウム、モノステアリン酸グリセリン等の界面活性剤、例えば、ポリビニルアルコール、ポリビニルピロリドン、カルボキシメチルセルロースナトリウム、メチルセルロース、ヒドロキシメチルセルロース、ヒドロキシエチルセルロース、ヒドロキシエチルセルロース、ヒドロキシプロピルセルロース等の親水性高分子等が挙げられるがそれらに限定されない。

【0449】

液状製剤における等張化剤の好適な例としては、塩化ナトリウム、グリセリン、D-マンニトール等が挙げられるがそれらに限定されない。

【0450】

液状製剤における緩衝剤の好適な例としては、リン酸塩、酢酸塩、炭酸塩およびクエン酸塩等の緩衝液等が挙げられるがそれらに限定されない。

【0451】

液状製剤における無痛化剤の好適な例としては、ベンジルアルコール、塩化ベンザルコニウムおよび塩酸プロカイン等が挙げられるがそれらに限定されない。

【0452】

液状製剤における防腐剤の好適な例としては、パラオキシ安息香酸エステル類、クロロブタノール、ベンジルアルコール、2-フェニルエチルアルコール、デヒドロ酢酸、ソルビン酸等が挙げられるがそれらに限定されない。

【0453】

液状製剤における抗酸化剤の好適な例としては、亜硫酸塩、アスコルビン酸、 α -トコフェロールおよびシステイン等が挙げられるがそれらに限定されない。

【0454】

注射剤として調製する際には、液剤および懸濁剤は殺菌され、かつ血液と等張であることが好ましい。通常、これらは、バクテリア保留フィルター等を用いるろ過、殺菌剤の配合または照射によって無菌化する。さらにこれらの処理後、凍結乾燥等の方法により固形物とし、使用直前に無菌水または無菌の注射用希釈剤（塩酸リドカイン水溶液、生理食塩水、ブドウ糖水溶液、エタノールまたはこれらの混合溶液等）を添加してもよい。

【0455】

さらに、必要ならば、医薬組成物は、着色料、保存剤、香料、矯味矯臭剤、甘味料等、ならびに他の薬剤を含んでもよい。

【0456】

本発明の医薬は、経口的または非経口的に投与され得る。あるいは、本発明の医薬は、静脈内または皮下で投与され得る。全身投与されるとき、本発明におい

て使用される医薬は、発熱物質を含まない、薬学的に受容可能な水溶液の形態であり得る。そのような薬学的に受容可能な組成物の調製は、pH、等張性、安定性などを考慮することにより、当業者は、容易に行うことができる。本明細書において、投与方法は、経口投与、非経口投与（例えば、静脈内投与、筋肉内投与、皮下投与、皮内投与、粘膜投与、直腸内投与、腔内投与、患部への局所投与、皮膚投与など）であり得る。そのような投与のための処方物は、任意の製剤形態で提供され得る。そのような製剤形態としては、例えば、液剤、注射剤、徐放剤が挙げられる。

【0457】

本発明の医薬は、必要に応じて生理学的に受容可能なキャリア、賦型剤または安定化剤（日本薬局方第14版またはその最新版、Remington's Pharmaceutical Sciences, 18th Edition, A. R. Gennaro, ed., Mack Publishing Company, 1990などを参照）と、所望の程度の純度を有する糖鎖組成物とを混合することによって、凍結乾燥されたケーキまたは水溶液の形態で調製され保存され得る。

【0458】

様々な送達系が公知であり、そして本発明の化合物を投与するために用いられ得る（例えば、リポソーム、微粒子、マイクロカプセルなど）。導入方法としては、皮内、筋内、腹腔内、静脈内、皮下、鼻腔内、硬膜外、および経口経路が挙げられるがそれらに限定されない。化合物または組成物は、任意の好都合な経路により（例えば、注入またはボーラス注射により、上皮または粘膜内層（例えば、口腔粘膜、直腸粘膜および腸粘膜など）を通しての吸収により）投与され得、そして他の生物学的に活性な薬剤と一緒に投与され得る。投与は、全身的または局所的であり得る。さらに、本発明の薬学的化合物または組成物を、任意の適切な経路（脳室内注射および髄腔内注射を包含し；脳室内注射は、例えば、Ommaya リザーバのようなリザーバに取り付けられた脳室内カテーテルにより容易にされ得る）により中枢神経系に導入することが望まれ得る。例えば、吸入器または噴霧器の使用、およびエアロゾル化剤を用いた処方により、肺投与もまた使

用され得る。

【0459】

特定の実施形態において、本発明のポリペプチド、ポリヌクレオチドまたは組成物を、処置の必要な領域（例えば、中枢神経、脳など）に局所的に投与することが望まれ得る；これは、制限する目的ではないが、例えば、手術中の局部注入、局所適用（例えば、手術後の創傷包帯との組み合わせで）により、注射により、カテーテルにより、坐剤により、またはインプラント（このインプラントは、シアラスティック（sialastic）膜のような膜または繊維を含む、多孔性、非多孔性、または膠様材料である）により達成され得る。好ましくは、抗体を含む本発明のタンパク質を投与する際、タンパク質が吸収されない材料を使用するために注意が払われなければならない。

【0460】

別の実施形態において、化合物または組成物は、小胞、特に、リポソーム中に封入された状態で送達され得る（Langer, Science 249:1527-1533 (1990); Treatら, Liposomes in the Therapy of Infectious Disease and Cancer, Lopez-BeresteinおよびFidler (編), Liss, New York, 353~365頁 (1989); Lopez-Berestein, 同書317~327頁を参照のこと；広く同書を参照のこと）。

【0461】

さらに別の実施形態において、化合物または組成物は、制御された徐放系中で送達され得る。1つの実施形態において、ポンプが用いられ得る（Langer (前出); Sefton, CRC Crit. Ref. Biomed. Eng. 14:201 (1987); Buchwaldら, Surgery 88:507 (1980); Saudекら, N. Engl. J. Med. 321:574 (1989) を参照のこと）。別の実施形態において、高分子材料が用いられ得る（Medical Applications of Controlled Release, LangerおよびWise (編), CRC Pres.,

Boca Raton, Florida (1974); Controlled Drug Bioavailability, Drug Product Design and Performance, SmolenおよびBall (編), Wiley, New York (1984); RangerおよびPeppas, J., Macromol. Sci. Rev. Macromol. Chem. 23:61 (1983) を参照のこと; Levyら, Science 228:190 (1985); Duringら, Ann. Neurol. 25:351 (1989); Howardら, J. Neurosurg. 71:105 (1989) もまた参照のこと)。

【0462】

さらに別の実施形態において、制御された徐放系は、治療標的、即ち、脳の近くに置かれ得、従って、全身用量の一部のみを必要とする（例えば、Goods on, Medical Applications of Controlled Release, (前出), 第2巻, 115～138頁 (1984) を参照のこと)。

【0463】

他の制御された徐放系は、Langerにより総説において議論される (Science 249:1527-1533 (1990))。

【0464】

本発明の処置方法において使用される組成物の量は、使用目的、対象疾患（種類、重篤度など）、患者の年齢、体重、性別、既往歴、細胞の形態または種類などを考慮して、当業者が容易に決定することができる。本発明の処置方法を被験体（または患者）に対して施す頻度もまた、使用目的、対象疾患（種類、重篤度など）、患者の年齢、体重、性別、既往歴、および治療経過などを考慮して、当業者が容易に決定することができる。頻度としては、例えば、毎日～数ヶ月に1回（例えば、1週間に1回～1ヶ月に1回）の投与が挙げられる。1週間～1ヶ月に1回の投与を、経過を見ながら施すことが好ましい。

【0465】

本発明のポリペプチド、ポリヌクレオチドなどの投与量は、被験体の年齢、体

重、症状または投与方法などにより異なり、特に限定されないが、通常成人1日あたり、経口投与の場合、0.01mg~10gであり、好ましくは、0.1mg~1g、1mg~100mg、0.1mg~10mgなどであり得る。非経口投与の場合、0.01mg~1gであり、好ましくは、0.01mg~100mg、0.1mg~100mg、1mg~100mg、0.1mg~10mgなどであり得る。

【0466】

本明細書中、「投与する」とは、本発明のポリペプチド、ポリヌクレオチド、因子などまたはそれを含む医薬組成物を、単独で、または他の治療剤と組み合わせ、生物の細胞または組織に取り込むことを意味する。組み合わせは、例えば、混合物として同時に、別々であるが同時にもしくは並行して；または逐次的にかのいずれかで投与され得る。これは、組み合わせられた薬剤が、治療混合物としてともに投与される提示を含み、そして組み合わせた薬剤が、別々であるが同時に（例えば、同じ個体へ別々の静脈ラインを通じての場合）投与される手順もまた含む。「組み合わせ」投与は、第1に与えられ、続いて第2に与えられる化合物または薬剤のうちの1つを別々に投与することをさらに含む。

【0467】

異常な状態はまた、生物へのシグナル伝達経路に異常を有する細胞の群に化合物を投与することによって予防または処置され得る。次いで、化合物を投与することの生物機能に対する効果が、モニターされ得る。この生物は、好ましくは、マウス、ラット、ウサギ、モルモット、またはヤギ、より好ましくは、サル（monkeyまたはape）、および最も好ましくは、ヒトである。

【0468】

本明細書において「指示書」は、本発明の医薬などを投与する方法または診断する方法などを医師、患者など投与を行う人、診断する人（患者本人であり得る）に対して記載したものである。この指示書は、本発明の診断薬、医薬などを投与する手順を指示する文言が記載されている。この指示書は、本発明が実施される国の監督官庁（例えば、日本であれば厚生労働省、米国であれば食品医薬品局（FDA）など）が規定した様式に従って作成され、その監督官庁により承認を

受けた旨が明記される。指示書は、いわゆる添付文書 (package insert) であり、通常は紙媒体で提供されるが、それに限定されず、例えば、電子媒体 (例えば、インターネットで提供されるホームページ (ウェブサイト)、電子メール) のような形態でも提供され得る。

【0469】

本発明の方法による治療の終了の判断は、商業的に利用できるアッセイもしくは機器使用による標準的な臨床検査室の結果または *Pep 5*、*p 75*、*Rho GDI*、*MAG*、*GT1b*、*p 21*、*Rho*、*Rho* キナーゼなどに関連する疾患 (例えば、神経疾患) に特徴的な臨床症状の消滅によって支持され得る。治療は、*Pep 5*、*p 75*、*Rho GDI*、*MAG*、*GT1b*、*p 21*、*Rho*、*Rho* キナーゼなどに関連する疾患 (例えば、神経疾患) の再発により再開することができる。

【0470】

本発明はまた、本発明の医薬組成物の 1 つ以上の成分を満たした 1 つ以上の容器を備える薬学的パックまたはキットを提供する。医薬品または生物学的製品の製造、使用または販売を規制する政府機関が定めた形式の通知が、このような容器に任意に付属し得、この通知は、ヒトへの投与に対する製造、使用または販売に関する政府機関による承認を表す。

【0471】

血漿、腫瘍および主要器官中での薬物および代謝産物の血漿半減期および体内分布はまた、障害を阻害するのに最も適切な薬物の選択を容易にするように決定され得る。このような測定が行われ得る。例えば、HPLC 分析は、薬物で処置された動物の血漿において行われ得、放射線標識された化合物の位置が、X線、CAT スキャンおよび MRI のような検出方法を用いて決定され得る。スクリーニングアッセイにおいて強力な阻害活性を示すが、薬物動態学的特徴が不十分な化合物は、化学構造の変更や再試験によって最適化され得る。この点について、良好な薬物動態学的特徴を示す化合物が、モデルとして使用され得る。

【0472】

毒性研究はまた、血液細胞組成物を測定することによって行われ得る。例えば

、毒性研究は、以下のような適切な動物モデルにおいて行われ得る：（１）化合物がマウスに投与される（未処置のコントロールマウスもまた、使用されるべきである）；（２）各々の処置群中の１匹のマウスから尾静脈を介して血液サンプルを周期的に得る；そして（３）上記サンプルを、赤血球および白血球の数、血液細胞組成物ならびにリンパ球と多形核細胞との割合について分析する。各々の投薬レジメンについての結果とコントロールとの比較は、毒性が存在するか否かを示す。

【0473】

各々の毒性研究の終了の際に、動物を屠殺することによって、さらなる研究を行い得る（好ましくは、American Veterinary Medical Association guidelines Report of the American Veterinary Medical Assoc. Panel on Euthanasia, (1993) J. Am. Vet. Med. Assoc. 202:229-249に従う）。次いで、各処置群からの代表的な動物が、転移、異常な病気または毒性の直接的な証拠のために全体的な検屍によって試験され得る。組織における全体の異常が記載され、組織が組織学的に試験される。体重の減少または血液成分の減少を引き起こす化合物は、主要な器官に対する有害作用を有する化合物と同様に好ましくない。一般的に、有害作用が大きいほど、その化合物は好ましくない。

【0474】

（詳細な説明）

本発明者らの研究によって、p75^{NTR}とRho GDIとの会合が、MAGおよびNogoによって増強されることが実証された。p75^{NTR}は、インビトロにおいてRho GDIからRhoAを離脱させる能力を有するので、p75^{NTR}を介したMAGまたはNogoによるRhoAの活性化は、少なくとも部分的に、Rho GDI置換に起因し得る。Rho GDIからのRhoの離脱は、グアニンヌクレオチド交換因子による活性化およびRhoのGTP結合形態の膜会合を可能にする重要な工程である。p75^{NTR}自体は、グアニンヌクレオチド交換のプロセスを媒介し得ないので、いくつかのRhoグアニンヌク

レオチド交換因子は、p75^{NTR}と協同し得る（これは、将来取り組まれるべき論点のうちの1つである）。別のRho GDI置換因子であるエズリン／ラディキシン／モエシンもまた、Swiss 3T3細胞中でRhoAの活性化を誘導し、このことは、p75^{NTR}がRhoAを活性化するという本発明者らの知見に類似することに注意すること。

【0475】

p75^{NTR}が、発生段階の間の軸索誘導または軸索成長において重要な役割を有するという証拠は増大している（Dechant, G. & Barde, Y. A. Nat Neurosci. 5, 1131-1136 (2002)）。p75^{NTR}に変異を保有するマウスの脊髄運動ニューロンまたは前肢運動ニューロンからの軸索伸展は、インビボで有意に妨害される（Yamashita, T., Tucker, K. L. & Barde, Y. A. Neuron 24, 585-593 (1999)、Bentley, C. A. & Lee K, F. J Neurosci. 20, 7706-7715 (2000)）。この表現型は、p75^{NTR}へのリガンド結合に起因し得る。なぜなら、p75^{NTR}を発現するがTrkAは発現しないヒヨコ毛様体ニューロンは、NGFに応答して神経突起を伸長させるからである。これらの観察と対照的に、異常な軸索伸長が、p75^{NTR}に変異を保有するマウスにおいて、軸索が通常成長しないミエリンに富む領域中に観察されている（Walsh, G. S., Krol, K. M., Crutcher, K. A. & Kawaja, M. D. J. Neurosci. 19, 4155-4168 (1999)）。これらの知見と一致して、現在までに同定された神経突起伸展のミエリン由来インヒビターの全てが、p75^{NTR}に依存する成長を阻害している（Yamashita, T., Higuchi, H. & Tohyama, M., J. Cell Biol. 157, 565-570 (2002)、Wang, K. C. & Kim, J. A., Sivasankaran, R., Segal, R. & He, Z., Nature 420, 74-78 (2002)、Wong, S. T. et al. Nat Neurosci. 5, 1302-1308 (2002)）。本発明者らの知見は、これらの効果が、p75^{NTR}のRho GDI置換活性から生じ得るということを示

唆する。さらに、p75^{NTR}発現ニューロンの軸索先導の誤りは、p75^{NTR}に変異を保有するマウス中で観察される表現型の間で顕著である（交感神経軸索および皮質サブプレート軸索の誤った標的化を含む）（Lee, K. F., Bachman, K., Landis, S. & Jaenisch, R. *Science* 263, 1447-1449 (1994)、McQuillen, P. S., DeFreitas, M. F., Zada, G. & Shatz, C. J., *J Neurosci.* 22, 3580-3593 (2000)）。Rhoは、発生段階における軸索先導の調節に関与しているようなので、p75^{NTR}の非存在下における誤った標的化は、Rho活性の適切な調節の失敗に起因し得る可能性があり得る。興味深いことに、近年の報告は、Rac1の下流経路の空間的な活性化および時間的な活性化におけるRho GDIの役割を示唆している（Del Pozo, M. A. et al., *Nat Cell Biol.* 4, 232-239 (2002)）。Rho GDIはRac1と会合し、そしてエフェクター結合をブロックするが、インテグリンが局在化する特定の領域におけるRho GDIからのRac1の離脱は、Rac1がそのエフェクターに結合することを可能にする。従って、Rho GDIは、Rho GTPase-エフェクター相互作用の空間的に制限された調節を与えることが示唆されている。さらなる研究において、Rho GDIによって調節されるRhoシグナル伝達の空間的な制御が、軸索先導に関与し得るという仮説を試験することは興味深い。

【0476】

p75^{NTR}の短いアイソフォーム（これは、細胞外リガンド結合ドメイン中の4つのシステインリッチリピートのうち3つを欠くが、インタクトな細胞内ドメインを有する）が見出されている（von Schack et al., *Nat Neurosci.* 4, 977-978 (2001)）。p75^{NTR}遺伝子の第3エキソンの破壊が標的化されたマウス（Lee, K. F. et al., *Cell* 69, 737-749 (1992)）由来の細胞は、この短い形態のp75^{NTR}を発現するが、阻害分子と無反応である（Yamashita, T., Higuchi, H. & Tohyama, M. *J. Cell Biol.*

. 157, 565-570 (2002)、Wang, K. C. & Kim, J. A., Sivasankaran, R., Segal, R. & He, Z. Nature 420, 74-78 (2002)、Wong, S. T. et al. Nat Neurosci. 5, 1302-1308 (2002))。本発明者らのデータによって、p75^{NTR}の短いアイソフォームを発現するが全長p75^{NTR}は発現しないニューロンの神経突起伸展にPep5が影響を与えなかったことが示されたので(図5b)、短いアイソフォームは、神経突起伸展の調節因子として作用し得ない。

【0477】

そのような短いアイソフォームは、細胞内ドメインを構成する成分であることから、好ましい実施形態において、細胞外ドメインを含む成分を含むものが好ましいp75として使用され得る。

【0478】

成体の中樞神経系の軸索は、損傷後に限定された量の再生しか可能ではないこと、ならびに所望されない環境は、再生の欠如に主要な役割を果たすということが、ここで十分に確立された。軸索成長阻害効果のほとんどは、ミエリンと関連する。ミエリン由来インヒビターの同定によって、生物学的活性の分子機構に関する本発明者らの認識が確認された。従って、阻害シグナルを克服するための戦略を探索することが、ここで重要な問題となる。本発明者らは、Pep5が、ミエリン由来インヒビターによって媒介される作用を特異的に阻害するようであることに注目した。なぜなら、Pep5は、海馬ニューロンからの神経突起伸展のNGF誘導性増進も(データには示さない)、100 ng/ml BDNFで処理した上頸神経節ニューロンの細胞死も(データには示さない)阻害しなかったからである。ミエリン関連インヒビター効果の特異的な阻害は、中樞神経系への損傷に対する実質的な治療剤を提供し得る。

【0479】

(好ましい実施形態の説明)

以下に本発明の好ましい実施形態を説明する。以下に提供される実施形態は、本発明のよりよい理解のために提供されるものであり、本発明の範囲は以下の記

載に限定されるべきでないことが理解される。従って、当業者は、本明細書中の記載を参酌して、本発明の範囲内で適宜改変を行うことができることは明らかである。

【0480】

(P e p 5 のポリペプチド形態)

1つの局面において、本発明は、P e p 5 ポリペプチドを含む神経を再生するための組成物、およびP e p 5 ポリペプチドを含む神経疾患、神経障害または神経の状態の、処置、予防、診断または予後のための組成物を提供する。ここで、再生、診断、予防、処置または予後上有効な量は、本明細書の開示に基づいて、当該分野において周知の技法を用いて当業者が種々のパラメータを参酌しながら決定することができ、そのような量を決定するためには、例えば、使用目的、対象疾患（種類、重篤度など）、患者の年齢、体重、性別、既往歴、細胞の形態または種類などを考慮して、当業者が容易に決定することができる（神経内科治療ガイド、小川紀雄著、中外医学社 1994を参照）。本発明では、神経の再生が、p 7 5 シグナル伝達経路を遮断することによって（P e p 5 による）、神経突起伸展の阻害が破壊されることによることが明らかになった。このようなシグナル伝達経路の遮断による神経再生の効果は従来知られておらず、したがって、本発明は、従来技術より優れた効果を示す。

【0481】

1つの実施形態において、本発明において用いられるP e p 5、またはそのフラグメントもしくは改変体は、（a）配列番号1に記載の核酸配列もしくはそのフラグメントによってコードされる、ポリペプチド；（b）配列番号2に記載のアミノ酸配列またはそのフラグメントからなる、ポリペプチド；（c）配列番号2に記載のアミノ酸配列において、1以上のアミノ酸が置換、付加および欠失からなる群より選択される少なくとも1つの変異を有し、かつ、生物学的活性を有する、ポリペプチド；または（d）（a）～（c）のいずれか1つのポリペプチドに対する相同性が少なくとも70%であるアミノ酸配列を有し、かつ、生物学的活性を有する、ポリペプチド、を含む。

【0482】

1つの好ましい実施形態において、上記(c)における置換、付加および欠失の数は限定されていてもよく、例えば、50以下、40以下、30以下、20以下、15以下、10以下、9以下、8以下、7以下、6以下、5以下、4以下、3以下、2以下であることが好ましい。より少ない数の置換、付加および欠失が好ましいが、生物学的活性を保持する（好ましくは、Pep5と類似するかまたは実質的に同一の活性を有する）限り、多い数であってもよい。

【0483】

別の好ましい実施形態において、上記(d)における上記改変体ポリペプチドが有する生物学的活性としては、例えば、配列番号2に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチドまたはそのフラグメントに対して特異的な抗体との相互作用、p75ポリペプチドとの相互作用などが挙げられるがそれらに限定されない。

【0484】

好ましい実施形態において、上記(a)～(c)のいずれか1つのポリペプチドに対する相同性は、少なくとも約80%であり得、より好ましくは少なくとも約90%であり得、さらに好ましくは少なくとも約98%であり得、もっとも好ましくは少なくとも約99%であり得る。

【0485】

本発明のポリペプチドは、通常、少なくとも3の連続するアミノ酸配列を有する。本発明のポリペプチドが有するアミノ酸長は、目的とする用途に適合する限り、どれだけ短くてもよいが、好ましくは、より長い配列が使用され得る。従って、好ましくは、少なくとも4アミノ酸長、より好ましくは少なくとも5アミノ酸長、少なくとも6アミノ酸長、少なくとも7アミノ酸長、少なくとも8アミノ酸長、少なくとも9アミノ酸長、少なくとも10アミノ酸長であってもよい。さらに好ましくは少なくとも15アミノ酸長であり得、なお好ましくは少なくとも20アミノ酸長であり得る。これらのアミノ酸長の下限は、具体的に挙げた数字のほかに、それらの間の数（例えば、11、12、13、14、16など）あるいは、それ以上の数（例えば、21、22、... 30、など）であってもよい。本発明のポリペプチドは、ある因子と相互作用することができる限り、その上限の長さは、配列番号2に示す配列の全長と同一であってもよく、それを超える

長さであってもよい。

【0486】

1つの実施形態において、Pep5ポリペプチド、またはそのフラグメントもしくは改変体は、配列番号2のアミノ酸に示す全範囲を含む。より好ましくは、Pep5、またはそのフラグメントもしくは改変体は、配列番号2のアミノ酸全範囲からなることが有利であり得る。

【0487】

1つの実施形態において、処置されるべき神経の疾患、障害または状態は、本明細書において他の場所において記載されており、例えば、アルツハイマー病、脊髄損傷、脳血管障害、脳外傷などを含む。好ましくは、本発明の組成物が対象とする神経の疾患、障害または状態は、アルツハイマー病であり得る。他に好ましい実施形態では、本発明の組成物が対象とする神経の疾患、障害または状態は、脊髄損傷、脳血管障害、脳外傷であり得る。

【0488】

(Pep5の核酸形態)

1つの局面において、本発明は、Pep5ポリペプチドをコードする核酸分子を含む神経を再生するための組成物、およびPep5ポリペプチドをコードする核酸分子を含む神経疾患、神経障害または神経の状態の、処置、予防、診断または予後のための組成物を提供する。ここで、再生、診断、予防、処置または予後上有効な量は、当該分野において周知の技法を用いて当業者が種々のパラメータを参酌しながら決定することができ、そのような量を決定するためには、例えば、使用目的、対象疾患（種類、重篤度など）、患者の年齢、体重、性別、既往歴、細胞の形態または種類などを考慮して、当業者が容易に決定することができる（神経内科治療ガイド、小川紀雄著、中外医学社 1994を参照）。本発明では、神経の再生が、p75シグナル伝達経路を遮断することによって（Pep5による）、神経突起伸展の阻害が破壊されることによることが明らかになった。このようなシグナル伝達経路の遮断による神経再生の効果は従来知られておらず、したがって、本発明は、従来技術より優れた効果を示す。

【0489】

1つの実施形態において、本発明において用いられる P e p 5 をコードする核酸分子、またはそのフラグメントもしくは改変体は、(a) 配列番号 1 に記載の塩基配列またはそのフラグメント配列を有するポリヌクレオチド；(b) 配列番号 2 に記載のアミノ酸配列 (C F F R G G F F N H N P R Y C) からなるポリペプチドまたはそのフラグメントをコードするポリヌクレオチド；(c) 配列番号 2 に記載のアミノ酸配列において、1 以上のアミノ酸が、置換、付加および欠失からなる群より選択される少なくとも 1 つの変異を有する改変体ポリペプチドであって、生物学的活性を有する改変体ポリペプチドをコードする、ポリヌクレオチド；(d) (a) ~ (c) のいずれか 1 つのポリヌクレオチドにストリンジェント条件下でハイブリダイズし、かつ生物学的活性を有するポリペプチドをコードするポリヌクレオチド；または (e) (a) ~ (c) のいずれか 1 つのポリヌクレオチドまたはその相補配列に対する同一性が少なくとも 70 % である塩基配列からなり、かつ、生物学的活性を有するポリペプチドをコードするポリヌクレオチド、を含む。

【0490】

1つの好ましい実施形態において、上記(c)における置換、付加および欠失の数は、限定され、例えば、50以下、40以下、30以下、20以下、15以下、10以下、9以下、8以下、7以下、6以下、5以下、4以下、3以下、2以下であることが好ましい。より少ない数の置換、付加および欠失が好ましいが、生物学的活性を保持する（好ましくは、P e p 5 と類似するかまたは実質的に同一の活性を有する）限り、多い数であってもよい。

【0491】

別の好ましい実施形態において、上記改変体ポリペプチドが有する生物学的活性としては、例えば、配列番号 2 に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチドまたはそのフラグメントに対して特異的な抗体との相互作用、p 75 との相互作用、p 75 による R h o G D I の機能調節の調節などが挙げられるがそれらに限定されない。これらは例えば、免疫学的アッセイ、リン酸化定量などによって測定することができる。

【0492】

好ましい実施形態において、上記 (a) ~ (c) のいずれか 1 つのポリヌクレオチドまたはその相補配列に対する同一性は、少なくとも約 80% であり得、より好ましくは少なくとも約 90% であり得、さらに好ましくは少なくとも約 98% であり得、もっとも好ましくは少なくとも約 99% であり得る。

【0493】

好ましい実施形態において、本発明の P e p 5 をコードする核酸分子またはそのフラグメントおよび改変体は、少なくとも 8 の連続するヌクレオチド長であり得る。本発明の核酸分子は、本発明の使用目的によってその適切なヌクレオチド長が変動し得る。より好ましくは、本発明の核酸分子は、少なくとも 10 の連続するヌクレオチド長であり得、さらに好ましくは少なくとも 15 の連続するヌクレオチド長であり得、なお好ましくは少なくとも 20 の連続するヌクレオチド長であり得る。これらのヌクレオチド長の下限は、具体的に挙げた数字のほかに、それらの間の数（例えば、9、11、12、13、14、16 など）あるいは、それ以上の数（例えば、21、22、... 30、など）であってもよい。本発明の核酸分子は、目的とする用途（例えば、アンチセンス、RNA i、マーカー、プライマー、プローブ、所定の因子と相互作用し得ること）として使用することができ、その上限の長さは、配列番号 1 に示す配列の全長であってもよく、それを超える長さであってもよい。あるいは、プライマーとして使用する場合は、通常少なくとも約 8 のヌクレオチド長であり得、好ましくは約 10 ヌクレオチド長であり得る。プローブとして使用する場合は、通常少なくとも約 15 ヌクレオチド長であり得、好ましくは約 17 ヌクレオチド長であり得る。

【0494】

1 つの実施形態において、P e p 5 をコードする核酸分子、またはそのフラグメントもしくは改変体は、配列番号 1 の核酸配列の全範囲を含む。より好ましくは、P e p 5 をコードする核酸分子、またはそのフラグメントもしくは改変体は、配列番号 1 の核酸配列の全範囲からなる。

【0495】

1 つの実施形態において、処置されるべき神経の疾患、障害または状態は、本明細書において他の場所において記載されており、例えば、アルツハイマー病、

脊髄損傷、脳血管障害、脳外傷などを含む。好ましくは、本発明の組成物が対象とする神経の疾患、障害または状態は、アルツハイマー病であり得る。他に好ましい実施形態では、本発明の組成物が対象とする神経の疾患、障害または状態は、脊髄損傷、脳血管障害、脳外傷であり得る。

【0496】

(P 75 のポリペプチド形態に対して特異的に相互作用する因子)

1つの局面において、本発明は、p 75 ポリペプチドに対して特異的に相互作用する因子を含む神経を再生するための組成物、および p 75 ポリペプチドに対して特異的に相互作用する因子を含む神経疾患、神経障害または神経の状態の、処置、予防、診断または予後のための組成物を提供する。ここで、再生、診断、予防、処置または予後上有効な量は、本明細書の開示に基づいて、当該分野において周知の技法を用いて当業者が種々のパラメータを参酌しながら決定することができ、そのような量を決定するためには、例えば、使用目的、対象疾患（種類、重篤度など）、患者の年齢、体重、性別、既往歴、細胞の形態または種類などを考慮して、当業者が容易に決定することができる（神経内科治療ガイド、小川紀雄著、中外医学社 1994を参照）。本発明では、神経の再生が、p 75 シグナル伝達経路を遮断することによって（p 75 に特異的に相互作用する因子による）、神経突起伸展の障害が破壊されることによることが明らかになった。このようなシグナル伝達経路の遮断による神経再生の効果は従来知られておらず、したがって、本発明は、従来技術より優れた効果を示す。

【0497】

1つの実施形態において、本発明の因子は、（a）配列番号4に記載のアミノ酸配列またはそのフラグメントからなる、ポリペプチド；（b）配列番号4に記載のアミノ酸配列において、1以上のアミノ酸が置換、付加および欠失からなる群より選択される少なくとも1つの変異を有し、かつ、生物学的活性を有する、ポリペプチド；（c）配列番号3または16に記載の塩基配列のスプライス変異体または対立遺伝子変異体によってコードされる、ポリペプチド；（d）配列番号4に記載のアミノ酸配列の種相同体である、ポリペプチド；または（e）（a）～（d）のいずれか1つのポリペプチドに対する相同性が少なくとも70%で

あるアミノ酸配列を有し、かつ、生物学的活性を有する、ポリペプチド、と特異的に相互作用する、因子であり得る。

【0498】

1つの好ましい実施形態において、上記(b)における置換、付加および欠失の数は限定されていてもよく、例えば、50以下、40以下、30以下、20以下、15以下、10以下、9以下、8以下、7以下、6以下、5以下、4以下、3以下、2以下であることが好ましい。より少ない数の置換、付加および欠失が好ましいが、生物学的活性を保持する（好ましくは、P75遺伝子産物と類似するかまたは実質的に同一の活性を有する）限り、多い数であってもよい。

【0499】

好ましい実施形態において、本発明の因子は、核酸分子、ポリペプチド、脂質、糖鎖、有機低分子およびそれらの複合分子からなる群より選択される。

【0500】

別の好ましい実施形態において、上記(c)における対立遺伝子変異体は、配列番号4に示すアミノ酸配列と少なくとも99%の相同性を有することが好ましい。

【0501】

別の好ましい実施形態において、上記種相同体は、本明細書中上述のように同定することができ、配列番号4に示すアミノ酸配列と少なくとも約30%の相同性を有することが好ましい。

【0502】

別の好ましい実施形態において、上記(e)における上記改変体ポリペプチドが有する生物学的活性としては、例えば、配列番号4に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチドまたはそのフラグメントに対して特異的な抗体との相互作用、RhogDIとの相互作用などが挙げられるがそれらに限定されない。

【0503】

好ましい実施形態において、上記(a)～(d)のいずれか1つのポリペプチドに対する相同性は、少なくとも約80%であり得、より好ましくは少なくとも約90%であり得、さらに好ましくは少なくとも約98%であり得、もっとも好

ましくは少なくとも約 99% であり得る。

【0504】

本発明の因子が特異的に相互作用するポリペプチドは、通常、少なくとも 3 の連続するアミノ酸配列を有する。本発明のポリペプチドが有するアミノ酸長は、目的とする用途に適合する限り、どれだけ短くてもよいが、好ましくは、より長い配列が使用され得る。従って、好ましくは、少なくとも 4 アミノ酸長、より好ましくは少なくとも 5 アミノ酸長、少なくとも 6 アミノ酸長、少なくとも 7 アミノ酸長、少なくとも 8 アミノ酸長、少なくとも 9 アミノ酸長、少なくとも 10 アミノ酸長であってもよい。さらに好ましくは少なくとも 15 アミノ酸長であり得、なお好ましくは少なくとも 20 アミノ酸長であり得る。これらのアミノ酸長の下限は、具体的に挙げた数字のほかに、それらの間の数（例えば、11、12、13、14、16 など）あるいは、それ以上の数（例えば、21、22、... 30、など）であってもよい。本発明の因子が特異的に相互作用するポリペプチドは、ある因子と相互作用することができる限り、その上限の長さは、配列番号 4 に示す配列の全長と同一であってもよく、それを超える長さであってもよい。

【0505】

好ましい実施形態において、本発明の因子は、核酸分子、ポリペプチド、脂質、糖鎖、有機低分子およびそれらの複合分子からなる群より選択される。より好ましくは、本発明の因子は、抗体またはその誘導体（例えば、単鎖抗体）である。従って、本発明の因子は、プローブおよび／またはインヒビターとして使用することができる。

【0506】

1つの実施形態において、P75 ポリペプチド、またはそのフラグメントもしくは改変体は、配列番号 4 のアミノ酸 273～427 位または配列番号 17 のアミノ酸 275 位～425 位の範囲を含む。他に好ましい実施形態では、p75 ポリペプチド、またはそのフラグメントもしくは改変体は、配列番号 4 のアミノ酸 393 位～408 位、または配列番号 17 のアミノ酸 391 位～406 位の範囲を含む。

【0507】

1つの実施形態において、処置されるべき神経の疾患、障害または状態は、本明細書において他の場所において記載されており、例えば、アルツハイマー病、脊髄損傷、脳血管障害、脳外傷などを含む。好ましくは、本発明の組成物が対象とする神経の疾患、障害または状態は、アルツハイマー病であり得る。他に好ましい実施形態では、本発明の組成物が対象とする神経の疾患、障害または状態は、脊髄損傷、脳血管障害、脳外傷であり得る。

【0508】

好ましい実施形態において、本発明の因子は、標識されているかまたは標識と結合し得るものであることが有利であり得る。そのように標識がされている場合、本発明の因子によって測定することができる種々の状態を直接および／または容易に測定することができる。そのような標識は、識別可能に標識される限り、どのような標識でもよく、例えば、蛍光標識、化学発光標識、放射能標識などが挙げられるがそれらに限定されない。あるいは、その因子が抗体などの免疫反応を利用して相互作用する場合、ビオチン-ストレプトアビジンのような免疫反応においてよく利用される系を用いてもよい。

【0509】

(p75ポリペプチドの核酸形態に対して相互作用する因子)

1つの局面において、本発明は、P75ポリペプチドをコードする核酸分子に対して特異的に相互作用する因子を含む神経を再生するための組成物、およびP75ポリペプチドをコードする核酸分子に対して特異的に相互作用する因子を含む神経疾患、神経障害または神経の状態の、処置、予防、診断または予後のための組成物を提供する。ここで、再生、診断、予防、処置または予後上有効な量は、当該分野において周知の技法を用いて当業者が種々のパラメータを参酌しながら決定することができ、そのような量を決定するためには、例えば、使用目的、対象疾患（種類、重篤度など）、患者の年齢、体重、性別、既往歴、細胞の形態または種類などを考慮して、当業者が容易に決定することができる（神経内科治療ガイド、小川紀雄著、中外医学社 1994を参照）。本発明では、神経の再生が、p75シグナル伝達経路を遮断することによって（p75に特異的に相互作用する因子による）、神経突起伸展の障害が破壊されることによることが明ら

かになった。このようなシグナル伝達経路の遮断による神経再生の効果は従来知られておらず、したがって、本発明は、従来技術より優れた効果を示す。

【0510】

1つの実施形態において、この因子は、(a) 配列番号3または16に記載の塩基配列またはそのフラグメント配列を有するポリヌクレオチド；(b) 配列番号4に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチドまたはそのフラグメントをコードするポリヌクレオチド；(c) 配列番号4に記載のアミノ酸配列において、1以上のアミノ酸が、置換、付加および欠失からなる群より選択される少なくとも1つの変異を有する改変体ポリペプチドであって、生物学的活性を有する改変体ポリペプチドをコードする、ポリヌクレオチド；(d) 配列番号3または16に記載の塩基配列のスプライス変異体または対立遺伝子変異体である、ポリヌクレオチド；(e) 配列番号4に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチドの種相同体をコードする、ポリヌクレオチド；(f) (a)～(e)のいずれか1つのポリヌクレオチドにストリンジェント条件下でハイブリダイズし、かつ生物学的活性を有するポリペプチドをコードするポリヌクレオチド；または(g) (a)～(e)のいずれか1つのポリヌクレオチドまたはその相補配列に対する同一性が少なくとも70%である塩基配列からなり、かつ、生物学的活性を有するポリペプチドをコードするポリヌクレオチド、と特異的に相互作用する、因子であり得る。

【0511】

1つの好ましい実施形態において、上記(c)における置換、付加および欠失の数は、限定され、例えば、50以下、40以下、30以下、20以下、15以下、10以下、9以下、8以下、7以下、6以下、5以下、4以下、3以下、2以下であることが好ましい。より少ない数の置換、付加および欠失が好ましいが、生物学的活性を保持する（好ましくは、P75遺伝子産物と類似するかまたは実質的に同一の活性を有する）限り、多い数であってもよい。

【0512】

別の好ましい実施形態において、上記改変体ポリペプチドが有する生物学的活性としては、例えば、配列番号4に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチドま

たはそのフラグメントに対して特異的な抗体との相互作用、p 75 との相互作用、p 75 による R h o G D I の機能調節の調節などが挙げられるがそれらに限定されない。これらは例えば、免疫学的アッセイ、リン酸化定量などによって測定することができる。

【0513】

別の好ましい実施形態において、対立遺伝子変異体は、配列番号 3 または 16 に示す核酸配列と少なくとも 99% の相同性を有することが有利である。

【0514】

上記種相同体は、その種の遺伝子配列データベースが存在する場合、そのデータベースに対して、本発明の P 75 をクエリ配列として検索することによって同定することができる。あるいは、本発明の P 75 の全部または一部をプローブまたはプライマーとして、その種の遺伝子ライブラリーをスクリーニングすることによって同定することができる。そのような同定方法は、当該分野において周知であり、本明細書において記載される文献にも記載されている。種相同体は、例えば、配列番号 3 または 16 に示す核酸配列と少なくとも約 30% の相同性を有することが好ましい。

【0515】

好ましい実施形態において、上記 (a) ~ (e) のいずれか 1 つのポリヌクレオチドまたはその相補配列に対する同一性は、少なくとも約 80% であり得、より好ましくは少なくとも約 90% であり得、さらに好ましくは少なくとも約 98% であり得、もっとも好ましくは少なくとも約 99% であり得る。

【0516】

好ましい実施形態において、本発明の P 75 をコードする核酸分子またはそのフラグメントおよび改変体は、少なくとも 8 の連続するヌクレオチド長であり得る。本発明の核酸分子は、本発明の使用目的によってその適切なヌクレオチド長が変動し得る。より好ましくは、本発明の核酸分子は、少なくとも 10 の連続するヌクレオチド長であり得、さらに好ましくは少なくとも 15 の連続するヌクレオチド長であり得、なお好ましくは少なくとも 20 の連続するヌクレオチド長であり得る。これらのヌクレオチド長の下限は、具体的に挙げた数字のほかに、そ

これらの間の数（例えば、9、11、12、13、14、16など）あるいは、それ以上の数（例えば、21、22、... 30、など）であってもよい。本発明の核酸分子は、目的とする用途（例えば、アンチセンス、RNAi、マーカー、プライマー、プローブ、所定の因子と相互作用し得ること）として使用することができる限り、その上限の長さは、配列番号3または16に示す配列の全長であってもよく、それを超える長さであってもよい。あるいは、プライマーとして使用する場合は、通常少なくとも約8のヌクレオチド長であり得、好ましくは約10ヌクレオチド長であり得る。プローブとして使用する場合は、通常少なくとも約15ヌクレオチド長であり得、好ましくは約17ヌクレオチド長であり得る。

【0517】

1つの実施形態において、P75をコードする核酸分子、またはそのフラグメントもしくは改変体は、配列番号3の核酸配列の114位～1397位または配列番号16の核酸配列の114～1391位の範囲を含む。より好ましくは、P75をコードする核酸分子、またはそのフラグメントもしくは改変体は、配列番号3の核酸配列1位～3386位、または配列番号16の核酸配列1位～3259位の範囲を含む。

【0518】

1つの実施形態において、処置されるべき神経の疾患、障害または状態は、本明細書において他の場所において記載されており、例えば、アルツハイマー病、脊髄損傷、脳血管障害、脳外傷などを含む。好ましくは、本発明の組成物が対象とする神経の疾患、障害または状態は、アルツハイマー病であり得る。他に好ましい実施形態では、本発明の組成物が対象とする神経の疾患、障害または状態は、脊髄損傷、脳血管障害、脳外傷であり得る。

【0519】

好ましい実施形態において、本発明の因子は、核酸分子、ポリペプチド、脂質、糖鎖、有機低分子およびそれらの複合分子からなる群より選択される。

【0520】

好ましい実施形態では、本発明の因子は、核酸分子である。本発明の因子が核酸分子である場合、そのような核酸分子は、少なくとも8の連続するヌクレオチ

ド長であり得る。本発明の核酸分子は、本発明の使用目的によってその適切なヌクレオチド長が変動し得る。より好ましくは、本発明の核酸分子は、少なくとも 10 の連続するヌクレオチド長であり得、さらに好ましくは少なくとも 15 の連続するヌクレオチド長であり得、なお好ましくは少なくとも 20 の連続するヌクレオチド長であり得る。これらのヌクレオチド長の下限は、具体的に挙げた数字のほかに、それらの間の数（例えば、9、11、12、13、14、16 など）あるいは、それ以上の数（例えば、21、22、... 30、など）であってもよい。本発明の核酸分子は、目的とする用途（例えば、マーカー、プライマー、プローブ）として使用することができる限り、その上限の長さは、配列番号 1 に示す配列の全長であってもよく、それを超える長さであってもよい。あるいは、プライマーとして使用する場合は、通常少なくとも約 8 のヌクレオチド長であり得、好ましくは約 10 ヌクレオチド長であり得る。プローブとして使用する場合は、通常少なくとも約 15 ヌクレオチド長であり得、好ましくは約 17 ヌクレオチド長であり得る。

【0521】

従って、1つの例示的な実施形態において、本発明の因子は、上記（a）～（g）のいずれかのポリヌクレオチドの核酸配列に対して相補的な配列またはそれに対して少なくとも 70% の同一性を有する配列を有する核酸分子であり得る。

【0522】

別の例示的な実施形態において、本発明の因子は、（a）～（g）のいずれかのポリヌクレオチドの核酸配列に対してストリンジェントな条件下でハイブリダイズする核酸分子であり得る。

【0523】

別の好ましい実施形態では、本発明の因子は、アンチセンスまたは RNA i である。RNA i は、siRNA であっても shRNA であってもよく、そのような例としては、たとえば、約 20 塩基前後（例えば、代表的には約 21～23 塩基長）またはそれ未満の長さの二本鎖 RNA であって、好ましくは、5' -リン酸、3' -OH の構造を有しており、3' 末端は約 2 塩基突出している。shRNA はまた、好ましくは、3' 突出末端を有し得る。二本鎖部分の長さは特に限

定されないが、好ましくは約10ヌクレオチド長以上、より好ましくは約20ヌクレオチド長以上であり得る。ここで、3' 突出末端は、好ましくはDNAであり得、より好ましくは少なくとも2ヌクレオチド長以上のDNAであり得、さらに好ましくは2～4ヌクレオチド長のDNAであり得る。

【0524】

(p75細胞外ドメインのポリペプチド形態)

1つの局面において、本発明は、p75細胞外ドメインポリペプチドを含む神経を再生するための組成物、およびp75細胞外ドメインポリペプチドを含む神経疾患、神経障害または神経の状態の、処置、予防、診断または予後のための組成物を提供する。ここで、再生、診断、予防、処置または予後上有効な量は、当該分野において周知の技法を用いて当業者が種々のパラメータを参酌しながら決定することができ、そのような量を決定するためには、例えば、使用目的、対象疾患（種類、重篤度など）、患者の年齢、体重、性別、既往歴、細胞の形態または種類などを考慮して、当業者が容易に決定することができる（神経内科治療ガイド、小川紀雄著、中外医学社 1994を参照）。本発明では、神経の再生が、p75シグナル伝達経路を遮断することによって（p75細胞外ドメインポリペプチドによる）、神経突起伸展の阻害が破壊されることによることが明らかになった。このようなシグナル伝達経路の遮断による神経再生の効果は従来知られておらず、したがって、本発明は、従来技術より優れた効果を示す。

【0525】

1つの実施形態において、本発明のp75細胞外ドメインは、（a）配列番号3または16に記載の核酸配列の、それぞれヌクレオチド198位～863位または201位～866位もしくはそのフラグメントによってコードされる、ポリペプチド；（b）配列番号4に記載のアミノ酸配列、それぞれアミノ酸29位～250位または30位～251位もしくはそのフラグメントを有する、ポリペプチド；（c）配列番号4に記載のアミノ酸配列、それぞれアミノ酸29位～250位または30位～251位において、1以上のアミノ酸が、置換、付加および欠失からなる群より選択される少なくとも1つの変異を有する改変体ポリペプチドであって、生物学的活性を有する、改変体ポリペプチド（d）配列番号3また

は 16 に記載の塩基配列、それぞれヌクレオチド 198 位～863 位または 201 位～866 位のスプライス改変体もしくは対立遺伝子改変体によってコードされる、ポリペプチド；(e) 配列番号 4 に記載のアミノ酸配列の、それぞれアミノ酸 29 位～250 位または 30 位～251 位を有するポリペプチドの、種相同体ポリペプチド；または (f) (a)～(e) のいずれか 1 つのポリペプチドのアミノ酸配列に対する同一性が少なくとも 70% であるアミノ酸配列からなり、かつ、生物学的活性を有する、ポリペプチド、を含む。

【0526】

1 つの好ましい実施形態において、上記 (b) における置換、付加および欠失の数は限定されていてもよく、例えば、50 以下、40 以下、30 以下、20 以下、15 以下、10 以下、9 以下、8 以下、7 以下、6 以下、5 以下、4 以下、3 以下、2 以下であることが好ましい。より少ない数の置換、付加および欠失が好ましいが、生物学的活性を保持する（好ましくは、p 75 遺伝子産物と類似するかまたは実質的に同一の活性を有する）限り、多い数であってもよい。

【0527】

別の好ましい実施形態において、上記 (c) における対立遺伝子変異体は、配列番号 4 に示すアミノ酸配列と少なくとも 99% の相同性を有することが好ましい。

【0528】

別の好ましい実施形態において、上記種相同体は、本明細書中上述のように同定することができ、配列番号 4 に示すアミノ酸配列と少なくとも約 30% の相同性を有することが好ましい。

【0529】

上記種相同体は、その種の遺伝子配列データベースが存在する場合、そのデータベースに対して、本発明の p 75 をクエリ配列として検索することによって同定することができる。あるいは、本発明の p 75 の全部または一部をプローブまたはプライマーとして、その種の遺伝子ライブラリーをスクリーニングすることによって同定することができる。そのような同定方法は、当該分野において周知であり、本明細書において記載される文献にも記載されている。種相同体は、例

えば、配列番号 3 または 16 に示す核酸配列または配列番号 4 に示すアミノ酸配列と少なくとも約 30% の相同性を有することが好ましい。

【0530】

別の好ましい実施形態において、上記 (e) における上記改変体ポリペプチドが有する生物学的活性としては、例えば、配列番号 4 に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチドまたはそのフラグメントに対して特異的な抗体との相互作用、Pep5 との相互作用、Rho との相互作用、GTPase との相互作用、MAG との相互作用、NgR との相互作用、Nogo との相互作用、OMgp との相互作用、p75 による Rho GDI の機能調節の調節などが挙げられるがそれらに限定されない。これらは例えば、免疫学的アッセイ、リン酸化定量などによって測定することができる。

【0531】

好ましい実施形態において、上記 (a) ~ (d) のいずれか 1 つのポリペプチドに対する相同性は、少なくとも約 80% であり得、より好ましくは少なくとも約 90% であり得、さらに好ましくは少なくとも約 98% であり得、もっとも好ましくは少なくとも約 99% であり得る。

【0532】

本発明のポリペプチドは、通常、少なくとも 3 の連続するアミノ酸配列を有する。本発明のポリペプチドが有するアミノ酸長は、目的とする用途に適合する限り、どれだけ短くてもよいが、好ましくは、より長い配列が使用され得る。従って、好ましくは、少なくとも 4 アミノ酸長、より好ましくは少なくとも 5 アミノ酸長、少なくとも 6 アミノ酸長、少なくとも 7 アミノ酸長、少なくとも 8 アミノ酸長、少なくとも 9 アミノ酸長、少なくとも 10 アミノ酸長であってもよい。さらに好ましくは少なくとも 15 アミノ酸長であり得、なお好ましくは少なくとも 20 アミノ酸長であり得る。これらのアミノ酸長の下限は、具体的に挙げた数字のほかに、それらの間の数 (例えば、11、12、13、14、16 など) あるいは、それ以上の数 (例えば、21、22、... 30、など) であってもよい。本発明のポリペプチドは、ある因子と相互作用することができる限り、その上限の長さは、配列番号 4 に示す配列の全長と同一であってもよく、それを超える

長さであってもよい。

【0533】

1つの実施形態において、p75細胞外ドメインポリペプチド、またはそのフラグメントもしくは改変体は、配列番号4または17の、それぞれアミノ酸29位～250位または30位～251位の範囲を含む。より好ましくは、p75細胞外ドメインポリペプチド、またはそのフラグメントもしくは改変体は、配列番号4または17の、それぞれアミノ酸29位～250位または30位～251位からなる。

【0534】

1つの実施形態において、処置されるべき神経の疾患、障害または状態は、本明細書において他の場所において記載されており、例えば、アルツハイマー病、脊髄損傷、脳血管障害、脳外傷などを含む。好ましくは、本発明の組成物が対象とする神経の疾患、障害または状態は、アルツハイマー病であり得る。他に好ましい実施形態では、本発明の組成物が対象とする神経の疾患、障害または状態は、脊髄損傷、脳血管障害、脳外傷であり得る。

【0535】

別の実施形態において、本発明のp75細胞外ドメインポリペプチドは、可溶性であることが好ましい。そのような可溶性のポリペプチドは、膜貫通ドメインを全部または一部削減することによって遺伝子工学的または合成により作製することができる。

【0536】

(p75細胞外ドメインポリペプチドの核酸形態)

1つの局面において、本発明は、p75細胞外ドメインポリペプチドをコードする核酸分子を含む神経を再生するための組成物、およびp75細胞外ドメインポリペプチドをコードする核酸分子を含む神経疾患、神経障害または神経の状態の、処置、予防、診断または予後のための組成物を提供する。ここで、再生、診断、予防、処置または予後上有効な量は、当該分野において周知の技法を用いて当業者が種々のパラメータを参酌しながら決定することができ、そのような量を決定するためには、例えば、使用目的、対象疾患（種類、重篤度など）、患者の

年齢、体重、性別、既往歴、細胞の形態または種類などを考慮して、当業者が容易に決定することができる（神経内科治療ガイド、小川紀雄著、中外医学社 1994を参照）。本発明では、神経の再生が、p75シグナル伝達経路を遮断することによって（p75細胞外ドメインポリペプチドによる）、神経突起伸展の阻害が破壊されることによることが明らかになった。このようなシグナル伝達経路の遮断による神経再生の効果は従来知られておらず、したがって、本発明は、従来技術より優れた効果を示す。

【0537】

1つの実施形態において、本発明において用いられるp75細胞外ドメインポリペプチドをコードする核酸分子、またはそのフラグメントもしくは改変体は、
（a）配列番号3または16に記載の塩基配列、それぞれヌクレオチド198位～863位または201位～866位またはそのフラグメント配列を有する、ポリヌクレオチド；（b）配列番号4または17に記載のアミノ酸配列、それぞれアミノ酸29位～250位または30位～251位またはそのフラグメントをコードする、ポリヌクレオチド、（c）配列番号4または17に記載のアミノ酸配列の、それぞれアミノ酸29位～250位または30位～251位において、1以上のアミノ酸が、置換、付加および欠失からなる群より選択される少なくとも1つの変異を有する改変体ポリペプチドであって、生物学的活性を有する改変体ポリペプチドをコードする、ポリヌクレオチド；（d）配列番号3または16に記載の塩基配列の、それぞれヌクレオチド198位～863位または201位～866位のスプライス変異体または対立遺伝子変異体である、ポリヌクレオチド；（e）配列番号4に記載のアミノ酸配列、それぞれアミノ酸29位～250位または30位～251位からなるポリペプチドの種相同体をコードする、ポリヌクレオチド；（f）（a）～（e）のいずれか1つのポリヌクレオチドにストリンジェントな条件下でハイブリダイズし、かつ生物学的活性を有するポリペプチドをコードするポリヌクレオチド；または（g）（a）～（e）のいずれか1つのポリヌクレオチドまたはその相補配列に対する同一性が少なくとも70%である塩基配列からなり、かつ、生物学的活性を有するポリペプチドをコードするポリヌクレオチド、からなる群より選択される、ポリヌクレオチド、を含む。

【0538】

1つの好ましい実施形態において、上記(c)における置換、付加および欠失の数は、限定され、例えば、50以下、40以下、30以下、20以下、15以下、10以下、9以下、8以下、7以下、6以下、5以下、4以下、3以下、2以下であることが好ましい。より少ない数の置換、付加および欠失が好ましいが、生物学的活性を保持する（好ましくは、p75細胞外ドメイン遺伝子産物と類似するかまたは実質的に同一の活性を有する）限り、多い数であってもよい。

【0539】

別の好ましい実施形態において、上記改変体ポリペプチドが有する生物学的活性としては、例えば、配列番号4または17に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチドまたはそのフラグメントに対して特異的な抗体との相互作用、配列番号4または17に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチドまたはそのフラグメントに対して特異的な抗体との相互作用、Pep5との相互作用、Rhoとの相互作用、GT1bとの相互作用、MAGとの相互作用、NgRとの相互作用、Nogoとの相互作用、OMgpとの相互作用、p75によるRho GDIの機能調節の調節などが挙げられるがそれらに限定されない。これらは例えば、免疫学的アッセイ、リン酸化定量などによって測定することができる。

【0540】

別の好ましい実施形態において、(c)に記載される対立遺伝子変異体は、配列番号3または16に示す核酸配列と少なくとも99%の相同性を有することが有利である。

【0541】

上記種相同体は、その種の遺伝子配列データベースが存在する場合、そのデータベースに対して、本発明のp75細胞外ドメインをクエリ配列として検索することによって同定することができる。あるいは、本発明のp75細胞外ドメインの全部または一部をプローブまたはプライマーとして、その種の遺伝子ライブラリーをスクリーニングすることによって同定することができる。そのような同定方法は、当該分野において周知であり、本明細書において記載される文献にも記載されている。種相同体は、例えば、配列番号3または16に示す核酸配列と少

なくとも約 30% の相同性を有することが好ましい。

【0542】

好ましい実施形態において、上記 (a) ~ (e) のいずれか 1 つのポリヌクレオチドまたはその相補配列に対する同一性は、少なくとも約 80% であり得、より好ましくは少なくとも約 90% であり得、さらに好ましくは少なくとも約 98% であり得、もっとも好ましくは少なくとも約 99% であり得る。

【0543】

好ましい実施形態において、本発明の p 75 細胞外ドメインポリペプチドをコードする核酸分子またはそのフラグメントおよび改変体は、少なくとも 8 の連続するヌクレオチド長であり得る。本発明の核酸分子は、本発明の使用目的によってその適切なヌクレオチド長が変動し得る。より好ましくは、本発明の核酸分子は、少なくとも 10 の連続するヌクレオチド長であり得、さらに好ましくは少なくとも 15 の連続するヌクレオチド長であり得、なお好ましくは少なくとも 20 の連続するヌクレオチド長であり得る。これらのヌクレオチド長の下限は、具体的に挙げた数字のほかに、それらの間の数 (例えば、9、11、12、13、14、16 など) あるいは、それ以上の数 (例えば、21、22、... 30、など) であってもよい。本発明の核酸分子は、目的とする用途 (例えば、アンチセンス、RNAi、マーカー、プライマー、プローブ、所定の因子と相互作用し得ること) として使用することができる限り、その上限の長さは、配列番号 3 または 16 に示す配列の全長であってもよく、それを超える長さであってもよい。あるいは、プライマーとして使用する場合は、通常少なくとも約 8 のヌクレオチド長であり得、好ましくは約 10 ヌクレオチド長であり得る。プローブとして使用する場合は、通常少なくとも約 15 ヌクレオチド長であり得、好ましくは約 17 ヌクレオチド長であり得る。

【0544】

1 つの実施形態において、p 75 細胞外ドメインポリペプチドをコードする核酸分子、またはそのフラグメントもしくは改変体は、配列番号 3 または 16 の核酸配列のうち、それぞれヌクレオチド 198 位 ~ 863 位または 201 位 ~ 866 位の範囲を含む。より好ましくは、p 75 細胞外ドメインをコードする核酸分

子、またはそのフラグメントもしくは改変体は、配列番号 3 または 16 の核酸配列の、それぞれヌクレオチド 198 位～863 位または 201 位～866 位からなる。

【0545】

1つの実施形態において、処置されるべき神経の疾患、障害または状態は、本明細書において他の場所において記載されており、例えば、アルツハイマー病、脊髄損傷、脳血管障害、脳外傷などを含む。好ましくは、本発明の組成物が対象とする神経の疾患、障害または状態は、アルツハイマー病であり得る。他に好ましい実施形態では、本発明の組成物が対象とする神経の疾患、障害または状態は、脊髄損傷、脳血管障害、脳外傷であり得る。

【0546】

別の実施形態において、本発明の p75 細胞外ドメインポリペプチドは、可溶性であることが好ましい。そのような可溶性のポリペプチドをコードする核酸分子は、膜貫通ドメインをコードする核酸配列を全部または一部削減することによって遺伝子工学的または合成により作製することができる。

【0547】

(Rho のポリペプチド形態)

1つの局面において、本発明は、Rho ポリペプチドを含む神経を再生するための組成物、および Rho ポリペプチドを含む神経疾患、神経障害または神経の状態の、処置、予防、診断または予後のための組成物を提供する。ここで、再生、診断、予防、処置または予後上有効な量は、当該分野において周知の技法を用いて当業者が種々のパラメータを参酌しながら決定することができ、そのような量を決定するためには、例えば、使用目的、対象疾患（種類、重篤度など）、患者の年齢、体重、性別、既往歴、細胞の形態または種類などを考慮して、当業者が容易に決定することができる（神経内科治療ガイド、小川紀雄著、中外医学社

1994 を参照）。本発明では、神経の再生が、p75 シグナル伝達経路を遮断することによって（Rho ポリペプチドの調節による）、神経突起伸展の阻害が破壊されることによることが明らかになった。このようなシグナル伝達経路の遮断による神経再生の効果は従来知られておらず、したがって、本発明は、従来

技術より優れた効果を示す。

【0548】

1つの実施形態において、本発明のR h oポリペプチドは、(a) 配列番号5に記載の核酸配列またはそのフラグメントによってコードされる、ポリペプチド；(b) 配列番号6に記載のアミノ酸配列またはそのフラグメントを有する、ポリペプチド；(c) 配列番号6に記載のアミノ酸配列において、1以上のアミノ酸が、置換、付加および欠失からなる群より選択される少なくとも1つの変異を有する改変体ポリペプチドであって、生物学的活性を有する、改変体ポリペプチド (d) 配列番号5に記載の塩基配列のスプライス改変体もしくは対立遺伝子改変体によってコードされる、ポリペプチド；(e) 配列番号6に記載のアミノ酸配列の種相同体ポリペプチド；または(f) (a) ~ (e) のいずれか1つのポリペプチドのアミノ酸配列に対する同一性が少なくとも70%であるアミノ酸配列からなり、かつ、生物学的活性を有する、ポリペプチド、を含む。

【0549】

1つの好ましい実施形態において、上記(b)における置換、付加および欠失の数は限定されていてもよく、例えば、50以下、40以下、30以下、20以下、15以下、10以下、9以下、8以下、7以下、6以下、5以下、4以下、3以下、2以下であることが好ましい。より少ない数の置換、付加および欠失が好ましいが、生物学的活性を保持する(好ましくは、R h oまたはR h o A遺伝子産物と類似するかまたは実質的に同一の活性を有する)限り、多い数であってもよい。

【0550】

別の好ましい実施形態において、上記(c)における対立遺伝子変異体は、配列番号6に示すアミノ酸配列と少なくとも99%の同一性を有することが好ましい。

【0551】

別の好ましい実施形態において、上記種相同体は、本明細書中上述のように同定することができ、配列番号6に示すアミノ酸配列と少なくとも約30%の同一性を有することが好ましい。

【0552】

上記種相同体は、その種の遺伝子配列データベースが存在する場合、そのデータベースに対して、本発明の R h o または R h o A をクエリ配列として検索することによって同定することができる。あるいは、本発明の R h o または R h o A の全部または一部をプローブまたはプライマーとして、その種の遺伝子ライブラリーをスクリーニングすることによって同定することができる。そのような同定方法は、当該分野において周知であり、本明細書において記載される文献にも記載されている。種相同体は、例えば、配列番号 5 に示す核酸配列または配列番号 6 に示すアミノ酸配列と少なくとも約 30% の相同性を有することが好ましい。

【0553】

別の好ましい実施形態において、上記 (e) における上記改変体ポリペプチドが有する生物学的活性としては、例えば、配列番号 6 に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチドまたはそのフラグメントに対して特異的な抗体との相互作用、P e p 5 との相互作用、p 7 5 との相互作用、G T 1 b との相互作用、M A G との相互作用、R h o G D I との相互作用などが挙げられるがそれらに限定されない。これらは例えば、免疫学的アッセイ、リン酸化定量などによって測定することができる。

【0554】

好ましい実施形態において、上記 (a) ~ (d) のいずれか 1 つのポリペプチドに対する相同性は、少なくとも約 80% であり得、より好ましくは少なくとも約 90% であり得、さらに好ましくは少なくとも約 98% であり得、もっとも好ましくは少なくとも約 99% であり得る。

【0555】

本発明のポリペプチドは、通常、少なくとも 3 の連続するアミノ酸配列を有する。本発明のポリペプチドが有するアミノ酸長は、目的とする用途に適合する限り、どれだけ短くてもよいが、好ましくは、より長い配列が使用され得る。従って、好ましくは、少なくとも 4 アミノ酸長、より好ましくは少なくとも 5 アミノ酸長、少なくとも 6 アミノ酸長、少なくとも 7 アミノ酸長、少なくとも 8 アミノ酸長、少なくとも 9 アミノ酸長、少なくとも 10 アミノ酸長であってもよい。さ

らに好ましくは少なくとも15アミノ酸長であり得、なお好ましくは少なくとも20アミノ酸長であり得る。これらのアミノ酸長の下限は、具体的に挙げた数字のほかに、それらの間の数（例えば、11、12、13、14、16など）あるいは、それ以上の数（例えば、21、22、... 30、など）であってもよい。本発明のポリペプチドは、ある因子と相互作用することができる限り、その上限の長さは、配列番号6に示す配列の全長と同一であってもよく、それを超える長さであってもよい。

【0556】

1つの実施形態において、Rh oポリペプチド、またはそのフラグメントもしくは改変体は、配列番号6の、それぞれアミノ酸29位～250位または30位～251位の範囲を含む。より好ましくは、Rh oポリペプチド、またはそのフラグメントもしくは改変体は、配列番号6の、それぞれアミノ酸29位～250位または30位～251位からなる。

【0557】

1つの実施形態において、処置されるべき神経の疾患、障害または状態は、本明細書において他の場所において記載されており、例えば、アルツハイマー病、脊髄損傷、脳血管障害、脳外傷などを含む。好ましくは、本発明の組成物が対象とする神経の疾患、障害または状態は、アルツハイマー病であり得る。他に好ましい実施形態では、本発明の組成物が対象とする神経の疾患、障害または状態は、脊髄損傷、脳血管障害、脳外傷であり得る。

【0558】

別の実施形態において、本発明のRh oポリペプチドは、可溶性であることが好ましい。そのような可溶性のポリペプチドは、膜貫通ドメインを全部または一部削減することによって遺伝子工学的または合成により作製することができる。

【0559】

(Rh oポリペプチドの核酸形態)

1つの局面において、本発明は、Rh oポリペプチドをコードする核酸分子を含む神経を再生するための組成物、およびRh oポリペプチドをコードする核酸分子を含む神経疾患、神経障害または神経の状態の、処置、予防、診断または予

後のための組成物を提供する。ここで、再生、診断、予防、処置または予後上有効な量は、当該分野において周知の技法を用いて当業者が種々のパラメータを参酌しながら決定することができ、そのような量を決定するためには、例えば、使用目的、対象疾患（種類、重篤度など）、患者の年齢、体重、性別、既往歴、細胞の形態または種類などを考慮して、当業者が容易に決定することができる（神経内科治療ガイド、小川紀雄著、中外医学社 1994を参照）。本発明では、神経の再生が、p75シグナル伝達経路を遮断することによって（Rhoポリペプチドの調節による）、神経突起伸展の阻害が破壊されることによることが明らかになった。このようなシグナル伝達経路の遮断による神経再生の効果は従来知られておらず、したがって、本発明は、従来技術より優れた効果を示す。

【0560】

1つの実施形態において、本発明において用いられるRhoポリペプチドをコードする核酸分子、またはそのフラグメントもしくは改変体は、（a）配列番号5に記載の塩基配列またはそのフラグメント配列を有する、ポリヌクレオチド；（b）配列番号6に記載のアミノ酸配列またはそのフラグメントをコードする、ポリヌクレオチド、（c）配列番号6に記載のアミノ酸配列において、1以上のアミノ酸が、置換、付加および欠失からなる群より選択される少なくとも1つの変異を有する改変体ポリペプチドであって、生物学的活性を有する改変体ポリペプチドをコードする、ポリヌクレオチド；（d）配列番号5に記載の塩基配列のスプライス変異体または対立遺伝子変異体である、ポリヌクレオチド；（e）配列番号6に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチドの種相同体をコードする、ポリヌクレオチド；（f）（a）～（e）のいずれか1つのポリヌクレオチドにストリンジェントな条件下でハイブリダイズし、かつ生物学的活性を有するポリペプチドをコードするポリヌクレオチド；または（g）（a）～（e）のいずれか1つのポリヌクレオチドまたはその相補配列に対する同一性が少なくとも70%である塩基配列からなり、かつ、生物学的活性を有するポリペプチドをコードするポリヌクレオチド、からなる群より選択される、ポリヌクレオチド、を含む。

【0561】

1つの好ましい実施形態において、上記(c)における置換、付加および欠失の数は、限定され、例えば、50以下、40以下、30以下、20以下、15以下、10以下、9以下、8以下、7以下、6以下、5以下、4以下、3以下、2以下であることが好ましい。より少ない数の置換、付加および欠失が好ましいが、生物学的活性を保持する（好ましくは、Rho遺伝子産物と類似するかまたは実質的に同一の活性を有する）限り、多い数であってもよい。

【0562】

別の好ましい実施形態において、上記改変体ポリペプチドが有する生物学的活性としては、例えば、配列番号6に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチドまたはそのフラグメントに対して特異的な抗体との相互作用、配列番号6に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチドまたはそのフラグメントに対して特異的な抗体との相互作用、Pep5との相互作用、p75との相互作用、GT1bとの相互作用、MAGとの相互作用、Rho GDIとの相互作用などが挙げられるがそれらに限定されない。これらは例えば、免疫学的アッセイ、リン酸化定量などによって測定することができる。

【0563】

別の好ましい実施形態において、(c)に記載の対立遺伝子変異体は、配列番号5に示す核酸配列と少なくとも99%の相同性を有することが有利である。

【0564】

上記種相同体は、その種の遺伝子配列データベースが存在する場合、そのデータベースに対して、本発明のRhoまたはRhoAをクエリ配列として検索することによって同定することができる。あるいは、本発明のRhoの全部または一部をプローブまたはプライマーとして、その種の遺伝子ライブラリーをスクリーニングすることによって同定することができる。そのような同定方法は、当該分野において周知であり、本明細書において記載される文献にも記載されている。種相同体は、例えば、配列番号5に示す核酸配列と少なくとも約30%の相同性を有することが好ましい。

【0565】

好ましい実施形態において、上記(a)～(e)のいずれか1つのポリヌクレ

オチドまたはその相補配列に対する同一性は、少なくとも約80%であり得、より好ましくは少なくとも約90%であり得、さらに好ましくは少なくとも約98%であり得、もっとも好ましくは少なくとも約99%であり得る。

【0566】

好ましい実施形態において、本発明のRhoポリペプチドをコードする核酸分子またはそのフラグメントおよび改変体は、少なくとも8の連続するヌクレオチド長であり得る。本発明の核酸分子は、本発明の使用目的によってその適切なヌクレオチド長が変動し得る。より好ましくは、本発明の核酸分子は、少なくとも10の連続するヌクレオチド長であり得、さらに好ましくは少なくとも15の連続するヌクレオチド長であり得、なお好ましくは少なくとも20の連続するヌクレオチド長であり得る。これらのヌクレオチド長の下限は、具体的に挙げた数字のほかに、それらの間の数（例えば、9、11、12、13、14、16など）あるいは、それ以上の数（例えば、21、22、... 30、など）であってもよい。本発明の核酸分子は、目的とする用途（例えば、アンチセンス、RNAi、マーカー、プライマー、プローブ、所定の因子と相互作用し得ること）として使用することができる限り、その上限の長さは、配列番号5に示す配列の全長であってもよく、それを超える長さであってもよい。あるいは、プライマーとして使用する場合は、通常少なくとも約8のヌクレオチド長であり得、好ましくは約10ヌクレオチド長であり得る。プローブとして使用する場合は、通常少なくとも約15ヌクレオチド長であり得、好ましくは約17ヌクレオチド長であり得る

【0567】

1つの実施形態において、Rhoポリペプチドをコードする核酸分子、またはそのフラグメントもしくは改変体は、配列番号5の核酸配列の全範囲を含む。より好ましくは、Rhoをコードする核酸分子、またはそのフラグメントもしくは改変体は、配列番号5の核酸配列の全範囲からなる。

【0568】

1つの実施形態において、処置されるべき神経の疾患、障害または状態は、本明細書において他の場所において記載されており、例えば、アルツハイマー病、

脊髄損傷、脳血管障害、脳外傷などを含む。好ましくは、本発明の組成物が対象とする神経の疾患、障害または状態は、アルツハイマー病であり得る。他に好ましい実施形態では、本発明の組成物が対象とする神経の疾患、障害または状態は、脊髄損傷、脳血管障害、脳外傷であり得る。

【0569】

別の実施形態において、本発明の R h o ポリペプチドは、P T D ドメインに結合していることが好ましい。そのような P T D ドメイン結合型ポリペプチドをコードする核酸分子は、P T D ドメインをコードする核酸配列を結合することによって遺伝子工学的または合成により作製することができる。

【0570】

(R h o G D I ポリペプチドに対して特異的に相互作用する因子)

1つの局面において、本発明は、R h o G D I ポリペプチドをコードする核酸分子に対して特異的に相互作用する因子を含む神経を再生するための組成物、および R h o G D I ポリペプチドをコードする核酸分子に対して特異的に相互作用する因子を含む神経疾患、神経障害または神経の状態の、処置、予防、診断または予後のための組成物を提供する。ここで、再生、診断、予防、処置または予後上有効な量は、当該分野において周知の技法を用いて当業者が種々のパラメータを参酌しながら決定することができ、そのような量を決定するためには、例えば、使用目的、対象疾患（種類、重篤度など）、患者の年齢、体重、性別、既往歴、細胞の形態または種類などを考慮して、当業者が容易に決定することができる（神経内科治療ガイド、小川紀雄著、中外医学社 1994を参照）。本発明では、神経の再生が、p 7 5 シグナル伝達経路を遮断することによって（R h o G D I ポリペプチドに特異的に相互作用する因子による）、神経突起伸展の阻害が破壊されることによることが明らかになった。このようなシグナル伝達経路の遮断による神経再生の効果は従来知られておらず、したがって、本発明は、従来技術より優れた効果を示す。

【0571】

1つの実施形態において、この因子は、（a）配列番号5に記載の核酸配列のヌクレオチドもしくはそのフラグメントによってコードされる、ポリペプチド；

(b) 配列番号 6 に記載のアミノ酸配列のアミノ酸もしくはそのフラグメントを有する、ポリペプチド；(c) 配列番号 6 に記載のアミノ酸配列のアミノ酸において、1 以上のアミノ酸が、置換、付加および欠失からなる群より選択される少なくとも 1 つの変異を有する改変体ポリペプチドであって、生物学的活性を有する、改変体ポリペプチド；(d) 配列番号 5 に記載の塩基配列のヌクレオチドのスプライス改変体もしくは対立遺伝子改変体によってコードされる、ポリペプチド；(e) 配列番号 6 に記載のアミノ酸配列のアミノ酸を有するポリペプチドの、種相同体ポリペプチド；または (f) (a) ~ (e) のいずれか 1 つのポリペプチドのアミノ酸配列に対する同一性が少なくとも 70% であるアミノ酸配列からなり、かつ、生物学的活性を有する、ポリペプチドに対して特異的に相互作用する、因子であり得る。

【0572】

1 つの好ましい実施形態において、上記 (b) における置換、付加および欠失の数は限定されていてもよく、例えば、50 以下、40 以下、30 以下、20 以下、15 以下、10 以下、9 以下、8 以下、7 以下、6 以下、5 以下、4 以下、3 以下、2 以下であることが好ましい。より少ない数の置換、付加および欠失が好ましいが、生物学的活性を保持する（好ましくは、Rho GDI 遺伝子産物と類似するかまたは実質的に同一の活性を有する）限り、多い数であってもよい。

【0573】

好ましい実施形態において、本発明の因子は、核酸分子、ポリペプチド、脂質、糖鎖、有機低分子およびそれらの複合分子からなる群より選択される。

【0574】

別の好ましい実施形態において、上記 (c) における対立遺伝子変異体は、配列番号 4 に示すアミノ酸配列と少なくとも 99% の相同性を有することが好ましい。

【0575】

別の好ましい実施形態において、上記種相同体は、本明細書中上述のように同定することができ、配列番号 6 に示すアミノ酸配列と少なくとも約 30% の相同

性を有することが好ましい。

【0576】

別の好ましい実施形態において、上記(e)における上記改変体ポリペプチドが有する生物学的活性としては、例えば、配列番号6に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチドまたはそのフラグメントに対して特異的な抗体との相互作用、p75との相互作用などが挙げられるがそれらに限定されない。

【0577】

好ましい実施形態において、上記(a)～(d)のいずれか1つのポリペプチドに対する相同性は、少なくとも約80%であり得、より好ましくは少なくとも約90%であり得、さらに好ましくは少なくとも約98%であり得、もっとも好ましくは少なくとも約99%であり得る。

【0578】

本発明の因子が特異的に相互作用するポリペプチドは、通常、少なくとも3の連続するアミノ酸配列を有する。本発明のポリペプチドが有するアミノ酸長は、目的とする用途に適合する限り、どれだけ短くてもよいが、好ましくは、より長い配列が使用され得る。従って、好ましくは、少なくとも4アミノ酸長、より好ましくは少なくとも5アミノ酸長、少なくとも6アミノ酸長、少なくとも7アミノ酸長、少なくとも8アミノ酸長、少なくとも9アミノ酸長、少なくとも10アミノ酸長であってもよい。さらに好ましくは少なくとも15アミノ酸長であり得、なお好ましくは少なくとも20アミノ酸長であり得る。これらのアミノ酸長の下限は、具体的に挙げた数字のほかに、それらの間の数(例えば、11、12、13、14、16など)あるいは、それ以上の数(例えば、21、22、...、30、など)であってもよい。本発明の因子が特異的に相互作用するポリペプチドは、ある因子と相互作用することができる限り、その上限の長さは、配列番号6に示す配列の全長と同一であってもよく、それを超える長さであってもよい。

【0579】

好ましい実施形態において、本発明の因子は、核酸分子、ポリペプチド、脂質、糖鎖、有機低分子およびそれらの複合分子からなる群より選択される。より好ましくは、本発明の因子は、抗体またはその誘導体(例えば、単鎖抗体)である

。従って、本発明の因子は、プローブおよび／またはインヒビターとして使用することができる。

【0580】

1つの実施形態において、Rho GDIポリペプチド、またはそのフラグメントもしくは改変体は、配列番号6のアミノ酸配列の全範囲を含む。より好ましくは、Rho GDIポリペプチド、またはそのフラグメントもしくは改変体は、配列番号6のアミノ酸の全範囲からなる。

【0581】

1つの実施形態において、処置されるべき神経の疾患、障害または状態は、本明細書において他の場所において記載されており、例えば、アルツハイマー病、脊髄損傷、脳血管障害、脳外傷などを含む。好ましくは、本発明の組成物が対象とする神経の疾患、障害または状態は、アルツハイマー病であり得る。他に好ましい実施形態では、本発明の組成物が対象とする神経の疾患、障害または状態は、脊髄損傷、脳血管障害、脳外傷であり得る。

【0582】

(Rho GDIポリペプチドをコードする核酸分子に対して特異的に相互作用する因子)

1つの局面において、本発明は、Rho GDIポリペプチドをコードする核酸分子に対して特異的に相互作用する因子を含む神経を再生するための組成物、およびRho GDIポリペプチドをコードする核酸分子に対して特異的に相互作用する因子を含む神経疾患、神経障害または神経の状態の、処置、予防、診断または予後のための組成物を提供する。ここで、再生、診断、予防、処置または予後上有効な量は、当該分野において周知の技法を用いて当業者が種々のパラメータを参酌しながら決定することができ、そのような量を決定するためには、例えば、使用目的、対象疾患（種類、重篤度など）、患者の年齢、体重、性別、既往歴、細胞の形態または種類などを考慮して、当業者が容易に決定することができる（神経内科治療ガイド、小川紀雄著、中外医学社 1994を参照）。本発明では、神経の再生が、p75シグナル伝達経路を遮断することによって（Rho GDIポリペプチドに特異的に相互作用する因子による）、神経突起伸展の

阻害が破壊されることによることが明らかになった。このようなシグナル伝達経路の遮断による神経再生の効果は従来知られておらず、したがって、本発明は、従来技術より優れた効果を示す。

【0583】

1つの実施形態において、この因子は、(a) 配列番号5に記載の塩基配列またはそのフラグメント配列を有するポリヌクレオチド；(b) 配列番号6に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチドまたはそのフラグメントをコードするポリヌクレオチド；(c) 配列番号6に記載のアミノ酸配列において、1以上のアミノ酸が、置換、付加および欠失からなる群より選択される少なくとも1つの変異を有する改変体ポリペプチドであって、生物学的活性を有する改変体ポリペプチドをコードする、ポリヌクレオチド；(d) 配列番号5に記載の塩基配列のスプライス変異体または対立遺伝子変異体である、ポリヌクレオチド；(e) 配列番号6に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチドの種相同体をコードする、ポリヌクレオチド；(f) (a)～(e)のいずれか1つのポリヌクレオチドにストリンジェント条件下でハイブリダイズし、かつ生物学的活性を有するポリペプチドをコードするポリヌクレオチド；または(g) (a)～(e)のいずれか1つのポリヌクレオチドまたはその相補配列に対する同一性が少なくとも70%である塩基配列からなり、かつ、生物学的活性を有するポリペプチドをコードするポリヌクレオチド、と特異的に相互作用する、因子であり得る。

【0584】

1つの好ましい実施形態において、上記(c)における置換、付加および欠失の数は、限定され、例えば、50以下、40以下、30以下、20以下、15以下、10以下、9以下、8以下、7以下、6以下、5以下、4以下、3以下、2以下であることが好ましい。より少ない数の置換、付加および欠失が好ましいが、生物学的活性を保持する（好ましくは、RhogDI遺伝子産物と類似するかまたは実質的に同一の活性を有する）限り、多い数であってもよい。

【0585】

別の好ましい実施形態において、上記改変体ポリペプチドが有する生物学的活性としては、例えば、配列番号6に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチドま

たはそのフラグメントに対して特異的な抗体との相互作用、p 75 との相互作用、p 75 による R h o G D I の機能調節の調節などが挙げられるがそれらに限定されない。これらは例えば、免疫学的アッセイ、リン酸化定量などによって測定することができる。

【0586】

別の好ましい実施形態において、上記(c)における対立遺伝子変異体は、配列番号5に示す核酸配列と少なくとも99%の相同性を有することが有利である。

【0587】

上記種相同体は、その種の遺伝子配列データベースが存在する場合、そのデータベースに対して、本発明の R h o G D I をクエリ配列として検索することによって同定することができる。あるいは、本発明の R h o G D I の全部または一部をプローブまたはプライマーとして、その種の遺伝子ライブラリーをスクリーニングすることによって同定することができる。そのような同定方法は、当該分野において周知であり、本明細書において記載される文献にも記載されている。種相同体は、例えば、配列番号5に示す核酸配列と少なくとも約30%の相同性を有することが好ましい。

【0588】

好ましい実施形態において、上記(a)～(e)のいずれか1つのポリヌクレオチドまたはその相補配列に対する同一性は、少なくとも約80%であり得、より好ましくは少なくとも約90%であり得、さらに好ましくは少なくとも約98%であり得、もっとも好ましくは少なくとも約99%であり得る。

【0589】

好ましい実施形態において、本発明の R h o G D I をコードする核酸分子またはそのフラグメントおよび改変体は、少なくとも8の連続するヌクレオチド長であり得る。本発明の核酸分子は、本発明の使用目的によってその適切なヌクレオチド長が変動し得る。より好ましくは、本発明の核酸分子は、少なくとも10の連続するヌクレオチド長であり得、さらに好ましくは少なくとも15の連続するヌクレオチド長であり得、なお好ましくは少なくとも20の連続するヌクレオ

チド長であり得る。これらのヌクレオチド長の下限は、具体的に挙げた数字のほかに、それらの間の数（例えば、9、11、12、13、14、16など）あるいは、それ以上の数（例えば、21、22、... 30、など）であってもよい。本発明の核酸分子は、目的とする用途（例えば、アンチセンス、RNAi、マーカー、プライマー、プローブ、所定の因子と相互作用し得ること）として使用することができる限り、その上限の長さは、配列番号5に示す配列の全長であってもよく、それを超える長さであってもよい。あるいは、プライマーとして使用する場合は、通常少なくとも約8のヌクレオチド長であり得、好ましくは約10ヌクレオチド長であり得る。プローブとして使用する場合は、通常少なくとも約15ヌクレオチド長であり得、好ましくは約17ヌクレオチド長であり得る。

【0590】

1つの実施形態において、RhogDIポリペプチドをコードする核酸分子、またはそのフラグメントもしくは改変体は、配列番号5の核酸配列の全範囲を含む。より好ましくは、RhogDIポリペプチドをコードする核酸分子、またはそのフラグメントもしくは改変体は、配列番号5の核酸配列の全範囲からなる。

【0591】

1つの実施形態において、処置されるべき神経の疾患、障害または状態は、本明細書において他の場所において記載されており、例えば、アルツハイマー病、脊髄損傷、脳血管障害、脳外傷などを含む。好ましくは、本発明の組成物が対象とする神経の疾患、障害または状態は、アルツハイマー病であり得る。他に好ましい実施形態では、本発明の組成物が対象とする神経の疾患、障害または状態は、脊髄損傷、脳血管障害、脳外傷であり得る。

【0592】

好ましい実施形態において、本発明の因子は、核酸分子、ポリペプチド、脂質、糖鎖、有機低分子およびそれらの複合分子からなる群より選択される。

【0593】

好ましい実施形態では、本発明の因子は、核酸分子である。本発明の因子が核酸分子である場合、そのような核酸分子は、少なくとも8の連続するヌクレオチ

ド長であり得る。本発明の核酸分子は、本発明の使用目的によってその適切なヌクレオチド長が変動し得る。より好ましくは、本発明の核酸分子は、少なくとも10の連続するヌクレオチド長であり得、さらに好ましくは少なくとも15の連続するヌクレオチド長であり得、なお好ましくは少なくとも20の連続するヌクレオチド長であり得る。これらのヌクレオチド長の下限は、具体的に挙げた数字のほかに、それらの間の数（例えば、9、11、12、13、14、16など）あるいは、それ以上の数（例えば、21、22、... 30、など）であってもよい。本発明の核酸分子は、目的とする用途（例えば、アンチセンス、RNAi、マーカー、プライマー、プローブ、所定の因子と相互作用し得ること）として使用することができる限り、その上限の長さは、配列番号5に示す配列の全長であってもよく、それを超える長さであってもよい。あるいは、プライマーとして使用する場合は、通常少なくとも約8のヌクレオチド長であり得、好ましくは約10ヌクレオチド長であり得る。プローブとして使用する場合は、通常少なくとも約15ヌクレオチド長であり得、好ましくは約17ヌクレオチド長であり得る。

【0594】

従って、1つの例示的な実施形態において、本発明の因子は、上記（a）～（g）のいずれかのポリヌクレオチドの核酸配列に対して相補的な配列またはそれに対して少なくとも70%の同一性を有する配列を有する核酸分子であり得る。

【0595】

別の例示的な実施形態において、本発明の因子は、（a）～（g）のいずれかのポリヌクレオチドの核酸配列に対してストリンジントな条件下でハイブリダイズする核酸分子であり得る。

【0596】

別の好ましい実施形態では、本発明の因子は、アンチセンスまたはRNAiである。RNAiは、siRNAであってもshRNAであってもよく、そのような例としては、たとえば、約20塩基前後（例えば、代表的には約21～23塩基長）またはそれ未満の長さの二本鎖RNAであって、好ましくは、5' -リン酸、3' -OHの構造を有しており、3' 末端は約2塩基突出している。shR

NAはまた、好ましくは、3' 突出末端を有し得る。二本鎖部分の長さは特に限定されないが、好ましくは約10ヌクレオチド長以上、より好ましくは約20ヌクレオチド長以上であり得る。ここで、3' 突出末端は、好ましくはDNAであり得、より好ましくは少なくとも2ヌクレオチド長以上のDNAであり得、さらに好ましくは2~4ヌクレオチド長のDNAであり得る。

【0597】

(MAGのポリペプチド形態に特異的な因子)

1つの局面において、本発明は、MAGポリペプチドをコードする核酸分子に対して特異的に相互作用する因子を含む神経を再生するための組成物、およびMAGポリペプチドをコードする核酸分子に対して特異的に相互作用する因子を含む神経疾患、神経障害または神経の状態の、処置、予防、診断または予後のための組成物を提供する。ここで、再生、診断、予防、処置または予後上有効な量は、当該分野において周知の技法を用いて当業者が種々のパラメータを参酌しながら決定することができ、そのような量を決定するためには、例えば、使用目的、対象疾患（種類、重篤度など）、患者の年齢、体重、性別、既往歴、細胞の形態または種類などを考慮して、当業者が容易に決定することができる（神経内科治療ガイド、小川紀雄著、中外医学社 1994を参照）。本発明では、神経の再生が、p75シグナル伝達経路を遮断することによって（MAGポリペプチドに特異的に相互作用する（たとえば、阻害または抑制する）因子による）、神経突起伸展の阻害が破壊されることによることが明らかになった。このようなシグナル伝達経路の遮断による神経再生の効果は従来知られておらず、したがって、本発明は、従来技術より優れた効果を示す。

【0598】

1つの実施形態において、この因子は、（a）配列番号7に記載の核酸配列のヌクレオチドもしくはそのフラグメントによってコードされる、ポリペプチド；（b）配列番号8に記載のアミノ酸配列のアミノ酸もしくはそのフラグメントを有する、ポリペプチド；（c）配列番号8に記載のアミノ酸配列のアミノ酸において、1以上のアミノ酸が、置換、付加および欠失からなる群より選択される少なくとも1つの変異を有する改変体ポリペプチドであって、生物学的活性を有す

る、改変体ポリペプチド；（d）配列番号7に記載の塩基配列のヌクレオチドのスプライス改変体もしくは対立遺伝子改変体によってコードされる、ポリペプチド；（e）配列番号8に記載のアミノ酸配列のアミノ酸を有するポリペプチドの、種相同体ポリペプチド；または（f）（a）～（e）のいずれか1つのポリペプチドのアミノ酸配列に対する同一性が少なくとも70%であるアミノ酸配列からなり、かつ、生物学的活性を有する、ポリペプチドに対して特異的に相互作用する、因子であり得る。

【0599】

1つの好ましい実施形態において、上記（b）における置換、付加および欠失の数は限定されていてもよく、例えば、50以下、40以下、30以下、20以下、15以下、10以下、9以下、8以下、7以下、6以下、5以下、4以下、3以下、2以下であることが好ましい。より少ない数の置換、付加および欠失が好ましいが、生物学的活性を保持する（好ましくは、MAG遺伝子産物と類似するかまたは実質的に同一の活性を有する）限り、多い数であってもよい。

【0600】

好ましい実施形態において、本発明の因子は、核酸分子、ポリペプチド、脂質、糖鎖、有機低分子およびそれらの複合分子からなる群より選択される。

【0601】

別の好ましい実施形態において、上記（c）における対立遺伝子変異体は、配列番号4に示すアミノ酸配列と少なくとも99%の相同性を有することが好ましい。

【0602】

別の好ましい実施形態において、上記種相同体は、本明細書中上述のように同定することができ、配列番号8に示すアミノ酸配列と少なくとも約30%の相同性を有することが好ましい。

【0603】

別の好ましい実施形態において、上記（e）における上記改変体ポリペプチドが有する生物学的活性としては、例えば、配列番号8に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチドまたはそのフラグメントに対して特異的な抗体との相互作用、

p 75 との相互作用などが挙げられるがそれらに限定されない。

【0604】

好ましい実施形態において、上記 (a) ~ (d) のいずれか 1 つのポリペプチドに対する相同性は、少なくとも約 80% であり得、より好ましくは少なくとも約 90% であり得、さらに好ましくは少なくとも約 98% であり得、もっとも好ましくは少なくとも約 99% であり得る。

【0605】

本発明の因子が特異的に相互作用するポリペプチドは、通常、少なくとも 3 の連続するアミノ酸配列を有する。本発明のポリペプチドが有するアミノ酸長は、目的とする用途に適合する限り、どれだけ短くてもよいが、好ましくは、より長い配列が使用され得る。従って、好ましくは、少なくとも 4 アミノ酸長、より好ましくは少なくとも 5 アミノ酸長、少なくとも 6 アミノ酸長、少なくとも 7 アミノ酸長、少なくとも 8 アミノ酸長、少なくとも 9 アミノ酸長、少なくとも 10 アミノ酸長であってもよい。さらに好ましくは少なくとも 15 アミノ酸長であり得、なお好ましくは少なくとも 20 アミノ酸長であり得る。これらのアミノ酸長の下限は、具体的に挙げた数字のほかに、それらの間の数（例えば、11、12、13、14、16 など）あるいは、それ以上の数（例えば、21、22、... 30、など）であってもよい。本発明の因子が特異的に相互作用するポリペプチドは、ある因子と相互作用することができる限り、その上限の長さは、配列番号 8 に示す配列の全長と同一であってもよく、それを超える長さであってもよい。

【0606】

好ましい実施形態において、本発明の因子は、核酸分子、ポリペプチド、脂質、糖鎖、有機低分子およびそれらの複合分子からなる群より選択される。より好ましくは、本発明の因子は、抗体またはその誘導体（例えば、単鎖抗体）である。従って、本発明の因子は、プローブおよび／またはインヒビターとして使用することができる。

【0607】

1 つの実施形態において、MAG ポリペプチド、またはそのフラグメントもしくは改変体は、配列番号 8 のアミノ酸配列の 1 位 ~ 626 位を含む。より好まし

くは、MAGポリペプチド、またはそのフラグメントもしくは改変体は、配列番号8のアミノ酸の全配列からなる。

【0608】

1つの実施形態において、処置されるべき神経の疾患、障害または状態は、本明細書において他の場所において記載されており、例えば、アルツハイマー病、脊髄損傷、脳血管障害、脳外傷などを含む。好ましくは、本発明の組成物が対象とする神経の疾患、障害または状態は、アルツハイマー病であり得る。他に好ましい実施形態では、本発明の組成物が対象とする神経の疾患、障害または状態は、脊髄損傷、脳血管障害、脳外傷であり得る。

【0609】

(MAGポリペプチドをコードする核酸分子に対して特異的に相互作用する因子)

1つの局面において、本発明は、MAGポリペプチドをコードする核酸分子に対して特異的に相互作用する因子を含む神経を再生するための組成物、およびMAGポリペプチドをコードする核酸分子に対して特異的に相互作用する因子を含む神経疾患、神経障害または神経の状態の、処置、予防、診断または予後のための組成物を提供する。ここで、再生、診断、予防、処置または予後上有効な量は、当該分野において周知の技法を用いて当業者が種々のパラメータを参酌しながら決定することができ、そのような量を決定するためには、例えば、使用目的、対象疾患（種類、重篤度など）、患者の年齢、体重、性別、既往歴、細胞の形態または種類などを考慮して、当業者が容易に決定することができる（神経内科治療ガイド、小川紀雄著、中外医学社 1994を参照）。本発明では、神経の再生が、p75シグナル伝達経路を遮断することによって（MAGポリペプチドに特異的に相互作用する因子による）、神経突起伸展の障害が破壊されることによって明らかになった。このようなシグナル伝達経路の遮断による神経再生の効果は従来知られておらず、したがって、本発明は、従来技術より優れた効果を示す。

【0610】

1つの実施形態において、この因子は、(a) 配列番号7に記載の塩基配列ま

たはそのフラグメント配列を有するポリヌクレオチド；（b）配列番号 8 に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチドまたはそのフラグメントをコードするポリヌクレオチド；（c）配列番号 8 に記載のアミノ酸配列において、1 以上のアミノ酸が、置換、付加および欠失からなる群より選択される少なくとも 1 つの変異を有する改変体ポリペプチドであって、生物学的活性を有する改変体ポリペプチドをコードする、ポリヌクレオチド；（d）配列番号 7 に記載の塩基配列のスプライス変異体または対立遺伝子変異体である、ポリヌクレオチド；（e）配列番号 8 に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチドの種相同体をコードする、ポリヌクレオチド；（f）（a）～（e）のいずれか 1 つのポリヌクレオチドにストリンジェント条件下でハイブリダイズし、かつ生物学的活性を有するポリペプチドをコードするポリヌクレオチド；または（g）（a）～（e）のいずれか 1 つのポリヌクレオチドまたはその相補配列に対する同一性が少なくとも 70 % である塩基配列からなり、かつ、生物学的活性を有するポリペプチドをコードするポリヌクレオチド、と特異的に相互作用する、因子であり得る。

【0611】

1 つの好ましい実施形態において、上記（c）における置換、付加および欠失の数は、限定され、例えば、50 以下、40 以下、30 以下、20 以下、15 以下、10 以下、9 以下、8 以下、7 以下、6 以下、5 以下、4 以下、3 以下、2 以下であることが好ましい。より少ない数の置換、付加および欠失が好ましいが、生物学的活性を保持する（好ましくは、MAG 遺伝子産物と類似するかまたは実質的に同一の活性を有する）限り、多い数であってもよい。

【0612】

別の好ましい実施形態において、上記改変体ポリペプチドが有する生物学的活性としては、例えば、配列番号 8 に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチドまたはそのフラグメントに対して特異的な抗体との相互作用、p 75 との相互作用、p 75 による MAG の機能調節の調節などが挙げられるがそれらに限定されない。これらは例えば、免疫学的アッセイ、リン酸化定量などによって測定することができる。

【0613】

別の好ましい実施形態において、上記(c)における対立遺伝子変異体は、配列番号7に示す核酸配列と少なくとも99%の相同性を有することが有利である。

【0614】

上記種相同体は、その種の遺伝子配列データベースが存在する場合、そのデータベースに対して、本発明のMAGをクエリ配列として検索することによって同定することができる。あるいは、本発明のMAGの全部または一部をプローブまたはプライマーとして、その種の遺伝子ライブラリーをスクリーニングすることによって同定することができる。そのような同定方法は、当該分野において周知であり、本明細書において記載される文献にも記載されている。種相同体は、例えば、配列番号7に示す核酸配列と少なくとも約30%の相同性を有することが好ましい。

【0615】

好ましい実施形態において、上記(a)～(e)のいずれか1つのポリヌクレオチドまたはその相補配列に対する同一性は、少なくとも約80%であり得、より好ましくは少なくとも約90%であり得、さらに好ましくは少なくとも約98%であり得、もっとも好ましくは少なくとも約99%であり得る。

【0616】

好ましい実施形態において、本発明のMAGをコードする核酸分子またはそのフラグメントおよび改変体は、少なくとも8の連続するヌクレオチド長であり得る。本発明の核酸分子は、本発明の使用目的によってその適切なヌクレオチド長が変動し得る。より好ましくは、本発明の核酸分子は、少なくとも10の連続するヌクレオチド長であり得、さらに好ましくは少なくとも15の連続するヌクレオチド長であり得、なお好ましくは少なくとも20の連続するヌクレオチド長であり得る。これらのヌクレオチド長の下限は、具体的に挙げた数字のほかに、それらの間の数(例えば、9、11、12、13、14、16など)あるいは、それ以上の数(例えば、21、22、... 30、など)であってもよい。本発明の核酸分子は、目的とする用途(例えば、アンチセンス、RNAi、マーカー、プライマー、プローブ、所定の因子と相互作用し得ること)として使用すること

ができる限り、その上限の長さは、配列番号 7 に示す配列の全長であってもよく、それを超える長さであってもよい。あるいは、プライマーとして使用する場合は、通常少なくとも約 8 のヌクレオチド長であり得、好ましくは約 10 ヌクレオチド長であり得る。プローブとして使用する場合は、通常少なくとも約 15 ヌクレオチド長であり得、好ましくは約 17 ヌクレオチド長であり得る。

【0617】

1つの実施形態において、MAGポリペプチドをコードする核酸分子、またはそのフラグメントもしくは改変体は、配列番号 7 の核酸配列の全範囲を含む。より好ましくは、MAGポリペプチドをコードする核酸分子、またはそのフラグメントもしくは改変体は、配列番号 7 の核酸配列の全範囲からなる。

【0618】

1つの実施形態において、処置されるべき神経の疾患、障害または状態は、本明細書において他の場所において記載されており、例えば、アルツハイマー病、脊髄損傷、脳血管障害、脳外傷などを含む。好ましくは、本発明の組成物が対象とする神経の疾患、障害または状態は、アルツハイマー病であり得る。他に好ましい実施形態では、本発明の組成物が対象とする神経の疾患、障害または状態は、脊髄損傷、脳血管障害、脳外傷であり得る。

【0619】

好ましい実施形態において、本発明の因子は、核酸分子、ポリペプチド、脂質、糖鎖、有機低分子およびそれらの複合分子からなる群より選択される。

【0620】

好ましい実施形態では、本発明の因子は、核酸分子である。本発明の因子が核酸分子である場合、そのような核酸分子は、少なくとも 8 の連続するヌクレオチド長であり得る。本発明の核酸分子は、本発明の使用目的によってその適切なヌクレオチド長が変動し得る。より好ましくは、本発明の核酸分子は、少なくとも 10 の連続するヌクレオチド長であり得、さらに好ましくは少なくとも 15 の連続するヌクレオチド長であり得、なお好ましくは少なくとも 20 の連続するヌクレオチド長であり得る。これらのヌクレオチド長の下限は、具体的に挙げた数字のほかに、それらの間の数（例えば、9、11、12、13、14、16など）

あるいは、それ以上の数（例えば、21、22、... 30、など）であってもよい。本発明の核酸分子は、目的とする用途（例えば、アンチセンス、RNAi、マーカー、プライマー、プローブ）として使用することができるかまたは所定の因子と相互作用することができる限り、その上限の長さは、配列番号7に示す配列の全長であってもよく、それを超える長さであってもよい。あるいは、プライマーとして使用する場合は、通常少なくとも約8のヌクレオチド長であり得、好ましくは約10ヌクレオチド長であり得る。プローブとして使用する場合は、通常少なくとも約15ヌクレオチド長であり得、好ましくは約17ヌクレオチド長であり得る。

【0621】

従って、1つの例示的な実施形態において、本発明の因子は、上記（a）～（g）のいずれかのポリヌクレオチドの核酸配列に対して相補的な配列またはそれに対して少なくとも70%の同一性を有する配列を有する核酸分子であり得る。

【0622】

別の例示的な実施形態において、本発明の因子は、（a）～（g）のいずれかのポリヌクレオチドの核酸配列に対してストリンジェントな条件下でハイブリダイズする核酸分子であり得る。ストリンジェンシーは、高くても、中程度であっても、低くてもよく、程度は、当業者が適宜状況に応じて決定することができる。

【0623】

別の好ましい実施形態では、本発明の因子は、アンチセンスまたはRNAiである。RNAiは、siRNAであってもshRNAであってもよく、そのような例としては、たとえば、約20塩基前後（例えば、代表的には約21～23塩基長）またはそれ未満の長さの二本鎖RNAであって、好ましくは、5'ーリン酸、3'ーOHの構造を有しており、3'末端は約2塩基突出している。shRNAはまた、好ましくは、3'突出末端を有し得る。二本鎖部分の長さは特に限定されないが、好ましくは約10ヌクレオチド長以上、より好ましくは約20ヌクレオチド長以上であり得る。ここで、3'突出末端は、好ましくはDNAであり得、より好ましくは少なくとも2ヌクレオチド長以上のDNAであり得、さら

に好ましくは 2～4 ヌクレオチド長の DNA であり得る。

【0624】

(Rho のポリペプチド形態に特異的に相互作用する因子)

1 つの局面において、本発明は、Rho ポリペプチドをコードする核酸分子に対して特異的に相互作用する因子を含む神経を再生するための組成物、および Rho ポリペプチドをコードする核酸分子に対して特異的に相互作用する因子を含む神経疾患、神経障害または神経の状態の、処置、予防、診断または予後のための組成物を提供する。ここで、再生、診断、予防、処置または予後上有効な量は、当該分野において周知の技法を用いて当業者が種々のパラメータを参酌しながら決定することができ、そのような量を決定するためには、例えば、使用目的、対象疾患（種類、重篤度など）、患者の年齢、体重、性別、既往歴、細胞の形態または種類などを考慮して、当業者が容易に決定することができる（神経内科治療ガイド、小川紀雄著、中外医学社 1994 を参照）。本発明では、神経の再生が、p75 シグナル伝達経路を遮断することによって（Rho ポリペプチドに特異的に相互作用する（たとえば、阻害または抑制する）因子による）、神経突起伸展の阻害が破壊されることによることが明らかになった。このようなシグナル伝達経路の遮断による神経再生の効果は従来知られておらず、したがって、本発明は、従来技術より優れた効果を示す。

【0625】

1 つの実施形態において、この因子は、（a）配列番号 11 に記載の核酸配列のヌクレオチドもしくはそのフラグメントによってコードされる、ポリペプチド；（b）配列番号 12 に記載のアミノ酸配列のアミノ酸もしくはそのフラグメントを有する、ポリペプチド；（c）配列番号 12 に記載のアミノ酸配列のアミノ酸において、1 以上のアミノ酸が、置換、付加および欠失からなる群より選択される少なくとも 1 つの変異を有する改変体ポリペプチドであって、生物学的活性を有する、改変体ポリペプチド；（d）配列番号 11 に記載の塩基配列のヌクレオチドのスプライス改変体もしくは対立遺伝子改変体によってコードされる、ポリペプチド；（e）配列番号 12 に記載のアミノ酸配列のアミノ酸を有するポリペプチドの、種相同体ポリペプチド；または（f）（a）～（e）のいずれか 1

つのポリペプチドのアミノ酸配列に対する同一性が少なくとも70%であるアミノ酸配列からなり、かつ、生物学的活性を有する、ポリペプチドに対して特異的に相互作用する、因子であり得る。

【0626】

1つの好ましい実施形態において、上記(b)における置換、付加および欠失の数は限定されていてもよく、例えば、50以下、40以下、30以下、20以下、15以下、10以下、9以下、8以下、7以下、6以下、5以下、4以下、3以下、2以下であることが好ましい。より少ない数の置換、付加および欠失が好ましいが、生物学的活性を保持する(好ましくは、Rh_o遺伝子産物と類似するかまたは実質的に同一の活性を有する)限り、多い数であってもよい。

【0627】

好ましい実施形態において、本発明の因子は、核酸分子、ポリペプチド、脂質、糖鎖、有機低分子およびそれらの複合分子からなる群より選択される。

【0628】

別の好ましい実施形態において、上記(c)における対立遺伝子変異体は、配列番号4に示すアミノ酸配列と少なくとも99%の相同性を有することが好ましい。

【0629】

別の好ましい実施形態において、上記種相同体は、本明細書中上述のように同定することができ、配列番号12に示すアミノ酸配列と少なくとも約30%の相同性を有することが好ましい。

【0630】

別の好ましい実施形態において、上記(e)における上記改変体ポリペプチドが有する生物学的活性としては、例えば、配列番号12に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチドまたはそのフラグメントに対して特異的な抗体との相互作用、p75との相互作用などが挙げられるがそれらに限定されない。

【0631】

好ましい実施形態において、上記(a)～(d)のいずれか1つのポリペプチドに対する相同性は、少なくとも約80%であり得、より好ましくは少なくとも

約 90% であり得、さらに好ましくは少なくとも約 98% であり得、もっとも好ましくは少なくとも約 99% であり得る。

【0632】

本発明の因子が特異的に相互作用するポリペプチドは、通常、少なくとも 3 の連続するアミノ酸配列を有する。本発明のポリペプチドが有するアミノ酸長は、目的とする用途に適合する限り、どれだけ短くてもよいが、好ましくは、より長い配列が使用され得る。従って、好ましくは、少なくとも 4 アミノ酸長、より好ましくは少なくとも 5 アミノ酸長、少なくとも 6 アミノ酸長、少なくとも 7 アミノ酸長、少なくとも 8 アミノ酸長、少なくとも 9 アミノ酸長、少なくとも 10 アミノ酸長であってもよい。さらに好ましくは少なくとも 15 アミノ酸長であり得、なお好ましくは少なくとも 20 アミノ酸長であり得る。これらのアミノ酸長の下限は、具体的に挙げた数字のほかに、それらの間の数（例えば、11、12、13、14、16 など）あるいは、それ以上の数（例えば、21、22、... 30、など）であってもよい。本発明の因子が特異的に相互作用するポリペプチドは、ある因子と相互作用することができる限り、その上限の長さは、配列番号 12 に示す配列の全長と同一であってもよく、それを超える長さであってもよい。

【0633】

好ましい実施形態において、本発明の因子は、核酸分子、ポリペプチド、脂質、糖鎖、有機低分子およびそれらの複合分子からなる群より選択される。より好ましくは、本発明の因子は、抗体またはその誘導体（例えば、単鎖抗体）である。従って、本発明の因子は、プローブおよび／またはインヒビターとして使用することができる。

【0634】

1 つの実施形態において、Rh o ポリペプチド、またはそのフラグメントもしくは改変体は、配列番号 12 のアミノ酸配列の 1 位～193 位を含む。より好ましくは、Rh o ポリペプチド、またはそのフラグメントもしくは改変体は、配列番号 12 のアミノ酸の全配列からなる。

【0635】

1つの実施形態において、処置されるべき神経の疾患、障害または状態は、本明細書において他の場所において記載されており、例えば、アルツハイマー病、脊髄損傷、脳血管障害、脳外傷などを含む。好ましくは、本発明の組成物が対象とする神経の疾患、障害または状態は、アルツハイマー病であり得る。他に好ましい実施形態では、本発明の組成物が対象とする神経の疾患、障害または状態は、脊髄損傷、脳血管障害、脳外傷であり得る。

【0636】

(R h o ポリペプチドをコードする核酸分子に対して特異的に相互作用する因子)

1つの局面において、本発明は、R h o ポリペプチドをコードする核酸分子に対して特異的に相互作用する因子を含む神経を再生するための組成物、およびR h o ポリペプチドをコードする核酸分子に対して特異的に相互作用する因子を含む神経疾患、神経障害または神経の状態の、処置、予防、診断または予後のための組成物を提供する。ここで、再生、診断、予防、処置または予後上有効な量は、当該分野において周知の技法を用いて当業者が種々のパラメータを参酌しながら決定することができ、そのような量を決定するためには、例えば、使用目的、対象疾患（種類、重篤度など）、患者の年齢、体重、性別、既往歴、細胞の形態または種類などを考慮して、当業者が容易に決定することができる（神経内科治療ガイド、小川紀雄著、中外医学社 1994を参照）。本発明では、神経の再生が、p 75 シグナル伝達経路を遮断することによって（R h o ポリペプチドに特異的に相互作用する因子による）、神経突起伸展の障害が破壊されることによることが明らかになった。このようなシグナル伝達経路の遮断による神経再生の効果は従来知られておらず、したがって、本発明は、従来技術より優れた効果を示す。

【0637】

1つの実施形態において、この因子は、（a）配列番号11に記載の塩基配列またはそのフラグメント配列を有するポリヌクレオチド；（b）配列番号12に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチドまたはそのフラグメントをコードするポリヌクレオチド；（c）配列番号12に記載のアミノ酸配列において、1以上

のアミノ酸が、置換、付加および欠失からなる群より選択される少なくとも1つの変異を有する改変体ポリペプチドであって、生物学的活性を有する改変体ポリペプチドをコードする、ポリヌクレオチド；(d) 配列番号11に記載の塩基配列のスプライス変異体または対立遺伝子変異体である、ポリヌクレオチド；(e) 配列番号12に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチドの種相同体をコードする、ポリヌクレオチド；(f) (a)～(e)のいずれか1つのポリヌクレオチドにストリンジェント条件下でハイブリダイズし、かつ生物学的活性を有するポリペプチドをコードするポリヌクレオチド；または(g) (a)～(e)のいずれか1つのポリヌクレオチドまたはその相補配列に対する同一性が少なくとも70%である塩基配列からなり、かつ、生物学的活性を有するポリペプチドをコードするポリヌクレオチド、と特異的に相互作用する、因子であり得る。

【0638】

1つの好ましい実施形態において、上記(c)における置換、付加および欠失の数は、限定され、例えば、50以下、40以下、30以下、20以下、15以下、10以下、9以下、8以下、7以下、6以下、5以下、4以下、3以下、2以下であることが好ましい。より少ない数の置換、付加および欠失が好ましいが、生物学的活性を保持する（好ましくは、Rho遺伝子産物と類似するかまたは実質的に同一の活性を有する）限り、多い数であってもよい。

【0639】

別の好ましい実施形態において、上記改変体ポリペプチドが有する生物学的活性としては、例えば、配列番号12に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチドまたはそのフラグメントに対して特異的な抗体との相互作用、p75との相互作用、p75またはRho GDIによるRhoの機能調節の調節などが挙げられるがそれらに限定されない。これらは例えば、免疫学的アッセイ、リン酸化定量などによって測定することができる。

【0640】

別の好ましい実施形態において、対立遺伝子変異体は、配列番号11に示す核酸配列と少なくとも99%の相同性を有することが有利である。

【0641】

上記種相同体は、その種の遺伝子配列データベースが存在する場合、そのデータベースに対して、本発明の R h o をクエリ配列として検索することによって同定することができる。あるいは、本発明の R h o の全部または一部をプローブまたはプライマーとして、その種の遺伝子ライブラリーをスクリーニングすることによって同定することができる。そのような同定方法は、当該分野において周知であり、本明細書において記載される文献にも記載されている。種相同体は、例えば、配列番号 11 に示す核酸配列と少なくとも約 30% の相同性を有することが好ましい。

【0642】

好ましい実施形態において、上記 (a) ~ (e) のいずれか 1 つのポリヌクレオチドまたはその相補配列に対する同一性は、少なくとも約 80% であり得、より好ましくは少なくとも約 90% であり得、さらに好ましくは少なくとも約 98% であり得、もっとも好ましくは少なくとも約 99% であり得る。

【0643】

好ましい実施形態において、本発明の R h o をコードする核酸分子またはそのフラグメントおよび改変体は、少なくとも 8 の連続するヌクレオチド長であり得る。本発明の核酸分子は、本発明の使用目的によってその適切なヌクレオチド長が変動し得る。より好ましくは、本発明の核酸分子は、少なくとも 10 の連続するヌクレオチド長であり得、さらに好ましくは少なくとも 15 の連続するヌクレオチド長であり得、なお好ましくは少なくとも 20 の連続するヌクレオチド長であり得る。これらのヌクレオチド長の下限は、具体的に挙げた数字のほかに、それらの間の数（例えば、9、11、12、13、14、16 など）あるいは、それ以上の数（例えば、21、22、... 30、など）であってもよい。本発明の核酸分子は、目的とする用途（例えば、アンチセンス、RNA i、マーカー、プライマー、プローブ、所定の因子と相互作用し得ること）として使用することができる限り、その上限の長さは、配列番号 11 に示す配列の全長であってもよく、それを超える長さであってもよい。あるいは、プライマーとして使用の場合は、通常少なくとも約 8 のヌクレオチド長であり得、好ましくは約 10 ヌクレオチド長であり得る。プローブとして使用の場合は、通常少なくとも約 15 ヌ

クレオチド長であり得、好ましくは約 17ヌクレオチド長であり得る。

【0644】

1つの実施形態において、Rhoポリペプチドをコードする核酸分子、またはそのフラグメントもしくは改変体は、配列番号 11の核酸配列の 1位～579位を含む。より好ましくは、Rhoポリペプチドをコードする核酸分子、またはそのフラグメントもしくは改変体は、配列番号 11の核酸配列の全範囲からなる。

【0645】

1つの実施形態において、処置されるべき神経の疾患、障害または状態は、本明細書において他の場所において記載されており、例えば、アルツハイマー病、脊髄損傷、脳血管障害、脳外傷などを含む。好ましくは、本発明の組成物が対象とする神経の疾患、障害または状態は、アルツハイマー病であり得る。他に好ましい実施形態では、本発明の組成物が対象とする神経の疾患、障害または状態は、脊髄損傷、脳血管障害、脳外傷であり得る。

【0646】

好ましい実施形態において、本発明の因子は、核酸分子、ポリペプチド、脂質、糖鎖、有機低分子およびそれらの複合分子からなる群より選択される。

【0647】

好ましい実施形態では、本発明の因子は、核酸分子である。本発明の因子が核酸分子である場合、そのような核酸分子は、少なくとも 8の連続するヌクレオチド長であり得る。本発明の核酸分子は、本発明の使用目的によってその適切なヌクレオチド長が変動し得る。より好ましくは、本発明の核酸分子は、少なくとも 10の連続するヌクレオチド長であり得、さらに好ましくは少なくとも 15の連続するヌクレオチド長であり得、なお好ましくは少なくとも 20の連続するヌクレオチド長であり得る。これらのヌクレオチド長の下限は、具体的に挙げた数字のほかに、それらの間の数（例えば、9、11、12、13、14、16など）あるいは、それ以上の数（例えば、21、22、... 30、など）であってもよい。本発明の核酸分子は、目的とする用途（例えば、アンチセンス、RNAi、マーカー、プライマー、プローブ、所定の因子と相互作用し得ること）として使用することができる限り、その上限の長さは、配列番号 11に示す配列の全長

であってもよく、それを超える長さであってもよい。あるいは、プライマーとして使用する場合は、通常少なくとも約 8 のヌクレオチド長であり得、好ましくは約 10 ヌクレオチド長であり得る。プローブとして使用する場合は、通常少なくとも約 15 ヌクレオチド長であり得、好ましくは約 17 ヌクレオチド長であり得る。

【0648】

従って、1つの例示的な実施形態において、本発明の因子は、上記 (a) ~ (g) のいずれかのポリヌクレオチドの核酸配列に対して相補的な配列またはそれに対して少なくとも 70% の同一性を有する配列を有する核酸分子であり得る。

【0649】

別の例示的な実施形態において、本発明の因子は、(a) ~ (g) のいずれかのポリヌクレオチドの核酸配列に対してストリンジェントな条件下でハイブリダイズする核酸分子であり得る。ストリンジェンシーは、高くても、中程度であっても、低くてもよく、程度は、当業者が適宜状況に応じて決定することができる。

【0650】

別の好ましい実施形態では、本発明の因子は、アンチセンスまたは RNAi である。RNAi は、siRNA であっても shRNA であってもよく、そのような例としては、たとえば、約 20 塩基前後（例えば、代表的には約 21 ~ 23 塩基長）またはそれ未満の長さの二本鎖 RNA であって、好ましくは、5' -リン酸、3' -OH の構造を有しており、3' 末端は約 2 塩基突出している。shRNA はまた、好ましくは、3' 突出末端を有し得る。二本鎖部分の長さは特に限定されないが、好ましくは約 10 ヌクレオチド長以上、より好ましくは約 20 ヌクレオチド長以上であり得る。ここで、3' 突出末端は、好ましくは DNA であり得、より好ましくは少なくとも 2 ヌクレオチド長以上の DNA であり得、さらに好ましくは 2 ~ 4 ヌクレオチド長の DNA であり得る。

【0651】

(Rho キナーゼのポリペプチド形態に特異的な因子)

1つの局面において、本発明は、Rho キナーゼポリペプチドをコードする核

酸分子に対して特異的に相互作用する因子を含む神経を再生するための組成物、および R h o キナーゼポリペプチドをコードする核酸分子に対して特異的に相互作用する因子を含む神経疾患、神経障害または神経の状態の、処置、予防、診断または予後のための組成物を提供する。ここで、再生、診断、予防、処置または予後上有効な量は、当該分野において周知の技法を用いて当業者が種々のパラメータを参酌しながら決定することができ、そのような量を決定するためには、例えば、使用目的、対象疾患（種類、重篤度など）、患者の年齢、体重、性別、既往歴、細胞の形態または種類などを考慮して、当業者が容易に決定することができる（神経内科治療ガイド、小川紀雄著、中外医学社 1994 を参照）。本発明では、神経の再生が、p 7 5 シグナル伝達経路を遮断することによって（R h o キナーゼポリペプチドに特異的に相互作用する（たとえば、阻害または抑制する）因子による）、神経突起伸展の阻害が破壊されることによることが明らかになった。このようなシグナル伝達経路の遮断による神経再生の効果は従来知られておらず、したがって、本発明は、従来技術より優れた効果を示す。

【0652】

1つの実施形態において、この因子は、（a）配列番号18に記載の核酸配列のヌクレオチドもしくはそのフラグメントによってコードされる、ポリペプチド；（b）配列番号19に記載のアミノ酸配列のアミノ酸もしくはそのフラグメントを有する、ポリペプチド；（c）配列番号19に記載のアミノ酸配列のアミノ酸において、1以上のアミノ酸が、置換、付加および欠失からなる群より選択される少なくとも1つの変異を有する改変体ポリペプチドであって、生物学的活性を有する、改変体ポリペプチド；（d）配列番号18に記載の塩基配列のヌクレオチドのスプライス改変体もしくは対立遺伝子改変体によってコードされる、ポリペプチド；（e）配列番号19に記載のアミノ酸配列のアミノ酸を有するポリペプチドの、種相同体ポリペプチド；または（f）（a）～（e）のいずれか1つのポリペプチドのアミノ酸配列に対する同一性が少なくとも70%であるアミノ酸配列からなり、かつ、生物学的活性を有する、ポリペプチドに対して特異的に相互作用する、因子であり得る。

【0653】

1つの好ましい実施形態において、上記（b）における置換、付加および欠失の数は限定されていてもよく、例えば、50以下、40以下、30以下、20以下、15以下、10以下、9以下、8以下、7以下、6以下、5以下、4以下、3以下、2以下であることが好ましい。より少ない数の置換、付加および欠失が好ましいが、生物学的活性を保持する（好ましくは、Rhoキナーゼ遺伝子産物と類似するかまたは実質的に同一の活性を有する）限り、多い数であってもよい。

【0654】

好ましい実施形態において、本発明の因子は、核酸分子、ポリペプチド、脂質、糖鎖、有機低分子およびそれらの複合分子からなる群より選択される。

【0655】

別の好ましい実施形態において、上記（c）における対立遺伝子変異体は、配列番号4に示すアミノ酸配列と少なくとも99%の相同性を有することが好ましい。

【0656】

別の好ましい実施形態において、上記種相同体は、本明細書中上述のように同定することができ、配列番号19に示すアミノ酸配列と少なくとも約30%の相同性を有することが好ましい。

【0657】

別の好ましい実施形態において、上記（e）における上記改変体ポリペプチドが有する生物学的活性としては、例えば、配列番号19に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチドまたはそのフラグメントに対して特異的な抗体との相互作用、p75との相互作用などが挙げられるがそれらに限定されない。

【0658】

好ましい実施形態において、上記（a）～（d）のいずれか1つのポリペプチドに対する相同性は、少なくとも約80%であり得、より好ましくは少なくとも約90%であり得、さらに好ましくは少なくとも約98%であり得、もっとも好ましくは少なくとも約99%であり得る。

【0659】

本発明の因子が特異的に相互作用するポリペプチドは、通常、少なくとも3の連続するアミノ酸配列を有する。本発明のポリペプチドが有するアミノ酸長は、目的とする用途に適合する限り、どれだけ短くてもよいが、好ましくは、より長い配列が使用され得る。従って、好ましくは、少なくとも4アミノ酸長、より好ましくは少なくとも5アミノ酸長、少なくとも6アミノ酸長、少なくとも7アミノ酸長、少なくとも8アミノ酸長、少なくとも9アミノ酸長、少なくとも10アミノ酸長であってもよい。さらに好ましくは少なくとも15アミノ酸長であり得、なお好ましくは少なくとも20アミノ酸長であり得る。これらのアミノ酸長の下限は、具体的に挙げた数字のほかに、それらの間の数（例えば、11、12、13、14、16など）あるいは、それ以上の数（例えば、21、22、... 30、など）であってもよい。本発明の因子が特異的に相互作用するポリペプチドは、ある因子と相互作用することができる限り、その上限の長さは、配列番号19に示す配列の全長と同一であってもよく、それを超える長さであってもよい。

【0660】

好ましい実施形態において、本発明の因子は、核酸分子、ポリペプチド、脂質、糖鎖、有機低分子およびそれらの複合分子からなる群より選択される。より好ましくは、本発明の因子は、抗体またはその誘導体（例えば、単鎖抗体）である。従って、本発明の因子は、プローブおよび／またはインヒビターとして使用することができる。

【0661】

1つの実施形態において、Rhoキナーゼポリペプチド、またはそのフラグメントもしくは改変体は、配列番号19のアミノ酸配列の1位～1388位を含む。より好ましくは、Rhoキナーゼポリペプチド、またはそのフラグメントもしくは改変体は、配列番号19のアミノ酸の全範囲からなる。

【0662】

1つの実施形態において、処置されるべき神経の疾患、障害または状態は、本明細書において他の場所において記載されており、例えば、アルツハイマー病、脊髄損傷、脳血管障害、脳外傷などを含む。好ましくは、本発明の組成物が対象

とする神経の疾患、障害または状態は、アルツハイマー病であり得る。他に好ましい実施形態では、本発明の組成物が対象とする神経の疾患、障害または状態は、脊髄損傷、脳血管障害、脳外傷であり得る。

【0663】

(R h o キナーゼポリペプチドをコードする核酸分子に対して特異的に相互作用する因子)

1つの局面において、本発明は、R h o キナーゼポリペプチドをコードする核酸分子に対して特異的に相互作用する因子を含む神経を再生するための組成物、およびR h o キナーゼポリペプチドをコードする核酸分子に対して特異的に相互作用する因子を含む神経疾患、神経障害または神経の状態の、処置、予防、診断または予後のための組成物を提供する。ここで、再生、診断、予防、処置または予後上有効な量は、当該分野において周知の技法を用いて当業者が種々のパラメータを参酌しながら決定することができ、そのような量を決定するためには、例えば、使用目的、対象疾患（種類、重篤度など）、患者の年齢、体重、性別、既往歴、細胞の形態または種類などを考慮して、当業者が容易に決定することができる（神経内科治療ガイド、小川紀雄著、中外医学社 1994を参照）。本発明では、神経の再生が、p 75シグナル伝達経路を遮断することによって（R h o キナーゼポリペプチドに特異的に相互作用する因子による）、神経突起伸展の障害が破壊されることによることが明らかになった。このようなシグナル伝達経路の遮断による神経再生の効果は従来知られておらず、したがって、本発明は、従来技術より優れた効果を示す。

【0664】

1つの実施形態において、この因子は、（a）配列番号18に記載の塩基配列またはそのフラグメント配列を有するポリヌクレオチド；（b）配列番号19に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチドまたはそのフラグメントをコードするポリヌクレオチド；（c）配列番号19に記載のアミノ酸配列において、1以上のアミノ酸が、置換、付加および欠失からなる群より選択される少なくとも1つの変異を有する改変体ポリペプチドであって、生物学的活性を有する改変体ポリペプチドをコードする、ポリヌクレオチド；（d）配列番号18に記載の塩基配

列のスプライス変異体または対立遺伝子変異体である、ポリヌクレオチド；(e) 配列番号 19 に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチドの種相同体をコードする、ポリヌクレオチド；(f) (a) ~ (e) のいずれか 1 つのポリヌクレオチドにストリンジェント条件下でハイブリダイズし、かつ生物学的活性を有するポリペプチドをコードするポリヌクレオチド；または (g) (a) ~ (e) のいずれか 1 つのポリヌクレオチドまたはその相補配列に対する同一性が少なくとも 70% である塩基配列からなり、かつ、生物学的活性を有するポリペプチドをコードするポリヌクレオチド、と特異的に相互作用する、因子であり得る。

【0665】

1 つの好ましい実施形態において、上記 (c) における置換、付加および欠失の数は、限定され、例えば、50 以下、40 以下、30 以下、20 以下、15 以下、10 以下、9 以下、8 以下、7 以下、6 以下、5 以下、4 以下、3 以下、2 以下であることが好ましい。より少ない数の置換、付加および欠失が好ましいが、生物学的活性を保持する（好ましくは、Rho キナーゼ遺伝子産物と類似するかまたは実質的に同一の活性を有する）限り、多い数であってもよい。

【0666】

別の好ましい実施形態において、上記改変体ポリペプチドが有する生物学的活性としては、例えば、配列番号 19 に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチドまたはそのフラグメントに対して特異的な抗体との相互作用、p75 との相互作用、p75 または Rho キナーゼ GDI による Rho キナーゼの機能調節の調節などが挙げられるがそれらに限定されない。これらは例えば、免疫学的アッセイ、リン酸化定量などによって測定することができる。

【0667】

別の好ましい実施形態において、対立遺伝子変異体は、配列番号 18 に示す核酸配列と少なくとも 99% の相同性を有することが有利である。

【0668】

上記種相同体は、その種の遺伝子配列データベースが存在する場合、そのデータベースに対して、本発明の Rho キナーゼをクエリ配列として検索することによって同定することができる。あるいは、本発明の Rho キナーゼの全部または

一部をプローブまたはプライマーとして、その種の遺伝子ライブラリーをスクリーニングすることによって同定することができる。そのような同定方法は、当該分野において周知であり、本明細書において記載される文献にも記載されている。種相同体は、例えば、配列番号 18 に示す核酸配列と少なくとも約 30% の相同性を有することが好ましい。

【0669】

好ましい実施形態において、上記 (a) ~ (e) のいずれか 1 つのポリヌクレオチドまたはその相補配列に対する同一性は、少なくとも約 80% であり得、より好ましくは少なくとも約 90% であり得、さらに好ましくは少なくとも約 98% であり得、もっとも好ましくは少なくとも約 99% であり得る。

【0670】

好ましい実施形態において、本発明の Rho キナーゼをコードする核酸分子またはそのフラグメントおよび改変体は、少なくとも 8 の連続するヌクレオチド長であり得る。本発明の核酸分子は、本発明の使用目的によってその適切なヌクレオチド長が変動し得る。より好ましくは、本発明の核酸分子は、少なくとも 10 の連続するヌクレオチド長であり得、さらに好ましくは少なくとも 15 の連続するヌクレオチド長であり得、なお好ましくは少なくとも 20 の連続するヌクレオチド長であり得る。これらのヌクレオチド長の下限は、具体的に挙げた数字のほかに、それらの間の数 (例えば、9、11、12、13、14、16 など) あるいは、それ以上の数 (例えば、21、22、... 30、など) であってもよい。本発明の核酸分子は、目的とする用途 (例えば、アンチセンス、RNAi、マーカー、プライマー、プローブ、所定の因子と相互作用し得ること) として使用することができる限り、その上限の長さは、配列番号 18 に示す配列の全長であってもよく、それを超える長さであってもよい。あるいは、プライマーとして使用する場合は、通常少なくとも約 8 のヌクレオチド長であり得、好ましくは約 10 ヌクレオチド長であり得る。プローブとして使用する場合は、通常少なくとも約 15 ヌクレオチド長であり得、好ましくは約 17 ヌクレオチド長であり得る。

【0671】

1 つの実施形態において、Rho キナーゼポリペプチドをコードする核酸分子

、またはそのフラグメントもしくは改変体は、配列番号 18 の核酸配列の 1 位～4164 位を含む。より好ましくは、Rho キナーゼポリペプチドをコードする核酸分子、またはそのフラグメントもしくは改変体は、配列番号 18 の核酸配列の全範囲からなる。

【0672】

1 つの実施形態において、処置されるべき神経の疾患、障害または状態は、本明細書において他の場所において記載されており、例えば、アルツハイマー病、脊髄損傷、脳血管障害、脳外傷などを含む。好ましくは、本発明の組成物が対象とする神経の疾患、障害または状態は、アルツハイマー病であり得る。他に好ましい実施形態では、本発明の組成物が対象とする神経の疾患、障害または状態は、脊髄損傷、脳血管障害、脳外傷であり得る。

【0673】

好ましい実施形態において、本発明の因子は、核酸分子、ポリペプチド、脂質、糖鎖、有機低分子およびそれらの複合分子からなる群より選択される。

【0674】

好ましい実施形態では、本発明の因子は、核酸分子である。本発明の因子が核酸分子である場合、そのような核酸分子は、少なくとも 8 の連続するヌクレオチド長であり得る。本発明の核酸分子は、本発明の使用目的によってその適切なヌクレオチド長が変動し得る。より好ましくは、本発明の核酸分子は、少なくとも 10 の連続するヌクレオチド長であり得、さらに好ましくは少なくとも 15 の連続するヌクレオチド長であり得、なお好ましくは少なくとも 20 の連続するヌクレオチド長であり得る。これらのヌクレオチド長の下限は、具体的に挙げた数字のほかに、それらの間の数（例えば、9、11、12、13、14、16 など）あるいは、それ以上の数（例えば、21、22、... 30、など）であってもよい。本発明の核酸分子は、目的とする用途（例えば、アンチセンス、RNAi、マーカー、プライマー、プローブ、所定の因子と相互作用し得ること）として使用することができる限り、その上限の長さは、配列番号 18 に示す配列の全長であってもよく、それを超える長さであってもよい。あるいは、プライマーとして使用する場合は、通常少なくとも約 8 のヌクレオチド長であり得、好ましくは

約10ヌクレオチド長であり得る。プローブとして使用する場合は、通常少なくとも約15ヌクレオチド長であり得、好ましくは約17ヌクレオチド長であり得る。

【0675】

従って、1つの例示的な実施形態において、本発明の因子は、上記(a)～(g)のいずれかのポリヌクレオチドの核酸配列に対して相補的な配列またはそれに対して少なくとも70%の同一性を有する配列を有する核酸分子であり得る。

【0676】

別の例示的な実施形態において、本発明の因子は、(a)～(g)のいずれかのポリヌクレオチドの核酸配列に対してストリンジेंटな条件下でハイブリダイズする核酸分子であり得る。ストリンジエンシーは、高くても、中程度であっても、低くてもよく、程度は、当業者が適宜状況に応じて決定することができる。

【0677】

別の好ましい実施形態では、本発明の因子は、アンチセンスまたはRNAiである。RNAiは、siRNAであってもshRNAであってもよく、そのような例としては、たとえば、約20塩基前後（例えば、代表的には約21～23塩基長）またはそれ未満の長さの二本鎖RNAであって、好ましくは、5'ーリン酸、3'ーOHの構造を有しており、3'末端は約2塩基突出している。shRNAはまた、好ましくは、3'突出末端を有し得る。二本鎖部分の長さは特に限定されないが、好ましくは約10ヌクレオチド長以上、より好ましくは約20ヌクレオチド長以上であり得る。ここで、3'突出末端は、好ましくはDNAであり得、より好ましくは少なくとも2ヌクレオチド長以上のDNAであり得、さらに好ましくは2～4ヌクレオチド長のDNAであり得る。

【0678】

(p21のポリペプチド形態)

1つの局面において、本発明は、p21ポリペプチドを含む神経を再生するための組成物、およびp21ポリペプチドを含む神経疾患、神経障害または神経の状態の、処置、予防、診断または予後のための組成物を提供する。ここで、再生

、診断、予防、処置または予後上有効な量は、本明細書の開示に基づいて、当該分野において周知の技法を用いて当業者が種々のパラメータを参酌しながら決定することができ、そのような量を決定するためには、例えば、使用目的、対象疾患（種類、重篤度など）、患者の年齢、体重、性別、既往歴、細胞の形態または種類などを考慮して、当業者が容易に決定することができる（神経内科治療ガイド、小川紀雄著、中外医学社 1994を参照）。本発明では、神経の再生が、p 75シグナル伝達経路を遮断することによって（p 21による）、神経突起伸展の阻害が破壊されることによることが明らかになった。このようなシグナル伝達経路の遮断による神経再生の効果は従来知られておらず、したがって、本発明は、従来技術より優れた効果を示す。

【0679】

1つの実施形態において、本発明において用いられる p 21、またはそのフラグメントもしくは改変体は、（a）配列番号 14 または配列番号 23 に記載のアミノ酸配列またはそのフラグメントからなる、ポリペプチド；（b）配列番号 14 または配列番号 23 に記載のアミノ酸配列において、1 以上のアミノ酸が置換、付加および欠失からなる群より選択される少なくとも 1 つの変異を有し、かつ、生物学的活性を有する、ポリペプチド；（c）配列番号 13 または配列番号 22 に記載の塩基配列のスプライス変異体または対立遺伝子変異体によってコードされる、ポリペプチド；（d）配列番号 14 または配列番号 23 に記載のアミノ酸配列の種相同体である、ポリペプチド；または（e）（a）～（d）のいずれか 1 つのポリペプチドに対する相同性が少なくとも 70 %であるアミノ酸配列を有し、かつ、生物学的活性を有する、ポリペプチド、を含む。

【0680】

1つの好ましい実施形態において、上記（b）における置換、付加および欠失の数は限定されていてもよく、例えば、50 以下、40 以下、30 以下、20 以下、15 以下、10 以下、9 以下、8 以下、7 以下、6 以下、5 以下、4 以下、3 以下、2 以下であることが好ましい。より少ない数の置換、付加および欠失が好ましいが、生物学的活性を保持する（好ましくは、p 21 遺伝子産物と類似するかまたは実質的に同一の活性を有する）限り、多い数であってもよい。

【0681】

別の好ましい実施形態において、上記(c)における対立遺伝子変異体は、配列番号14または配列番号23に示すアミノ酸配列と少なくとも99%の相同性を有することが好ましい。

【0682】

別の好ましい実施形態において、上記種相同体は、本明細書中上述のように同定することができ、配列番号14または配列番号23に示すアミノ酸配列と少なくとも約30%の相同性を有することが好ましい。

【0683】

別の好ましい実施形態において、上記(e)における上記改変体ポリペプチドが有する生物学的活性としては、例えば、配列番号14または配列番号23に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチドまたはそのフラグメントに対して特異的な抗体との相互作用、Rho GTP、Rhoキナーゼとの相互作用などが挙げられるがそれらに限定されない。

【0684】

好ましい実施形態において、上記(a)～(d)のいずれか1つのポリペプチドに対する相同性は、少なくとも約80%であり得、より好ましくは少なくとも約90%であり得、さらに好ましくは少なくとも約98%であり得、もっとも好ましくは少なくとも約99%であり得る。

【0685】

本発明のポリペプチドは、通常、少なくとも3の連続するアミノ酸配列を有する。本発明のポリペプチドが有するアミノ酸長は、目的とする用途に適合する限り、どれだけ短くてもよいが、好ましくは、より長い配列が使用され得る。従って、好ましくは、少なくとも4アミノ酸長、より好ましくは少なくとも5アミノ酸長、少なくとも6アミノ酸長、少なくとも7アミノ酸長、少なくとも8アミノ酸長、少なくとも9アミノ酸長、少なくとも10アミノ酸長であってもよい。さらに好ましくは少なくとも15アミノ酸長であり得、なお好ましくは少なくとも20アミノ酸長であり得る。これらのアミノ酸長の下限は、具体的に挙げた数字のほかに、それらの間の数(例えば、11、12、13、14、16など)ある

いは、それ以上の数（例えば、21、22、... 30、など）であってもよい。本発明のポリペプチドは、ある因子と相互作用することができる限り、その上限の長さは、配列番号14または配列番号23に示す配列の全長と同一であってもよく、それを超える長さであってもよい。

【0686】

1つの実施形態において、p21ポリペプチド、またはそのフラグメントもしくは改変体は、配列番号14または配列番号23のアミノ酸に示す1位～140位、または1位～164位を含む。より好ましくは、p21、またはそのフラグメントもしくは改変体は、配列番号14または配列番号23のアミノ酸1位～140位、または全範囲からなることが有利であり得る。別の好ましい実施形態では、p21、またはそのフラグメントもしくは改変体は、配列番号14または配列番号23のアミノ酸1位～140位を含み、141位以降の配列を含まないこと（このものを Δ NLS p21という）が有利であり得る。 Δ NLSとは、核移行シグナルの略称であり、核移行シグナルを機能させないような変異を挿入することによって、p21またはそのフラグメントもしくは改変体が細胞質のとどまることができ、それによって、p75シグナル伝達機構を抑制または阻害することができ、本発明の効果がより有利に達成され得る。

【0687】

好ましい実施形態において、本発明の組成物に含まれるp21ポリペプチドは、さらに、PTDドメインを含むことが有利であり得る。PTDドメインの代表的配列としては、YGRKKRRQRRR（配列番号20）およびその改変体が挙げられるがそれに限定されない。PTDドメインは、その細胞質移行活性が発揮される限り、神経再生因子（例えば、p21ポリペプチド）とどのような位置関係に配置されてもよいが、好ましい実施形態において、PTDドメインは、p21ポリペプチドのN末端またはC末端に配置されることが有利であり得る。

【0688】

1つの実施形態において、処置されるべき神経の疾患、障害または状態は、本明細書において他の場所において記載されており、例えば、アルツハイマー病、脊髄損傷、脳血管障害、脳外傷などを含む。好ましくは、本発明の組成物が対象

とする神経の疾患、障害または状態は、アルツハイマー病であり得る。他に好ましい実施形態では、本発明の組成物が対象とする神経の疾患、障害または状態は、脊髄損傷、脳血管障害、脳外傷であり得る。

【0689】

(p 21の核酸形態)

1つの局面において、本発明は、P 21ポリペプチドをコードする核酸分子を含む神経を再生するための組成物、およびP 21ポリペプチドをコードする核酸分子を含む神経疾患、神経障害または神経の状態の、処置、予防、診断または予後のための組成物を提供する。ここで、再生、診断、予防、処置または予後上有効な量は、当該分野において周知の技法を用いて当業者が種々のパラメータを参酌しながら決定することができ、そのような量を決定するためには、例えば、使用目的、対象疾患（種類、重篤度など）、患者の年齢、体重、性別、既往歴、細胞の形態または種類などを考慮して、当業者が容易に決定することができる（神経内科治療ガイド、小川紀雄著、中外医学社 1994を参照）。本発明では、神経の再生が、p 75シグナル伝達経路を遮断することによって（P 21による）、神経突起伸展の障害が破壊されることによることが明らかになった。このようなシグナル伝達経路の遮断による神経再生の効果は従来知られておらず、したがって、本発明は、従来技術より優れた効果を示す。

【0690】

1つの実施形態において、本発明において用いられるP 21をコードする核酸分子、またはそのフラグメントもしくは改変体は、（a）配列番号13または配列番号22に記載の塩基配列またはそのフラグメント配列を有するポリヌクレオチド；（b）配列番号14または配列番号23に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチドまたはそのフラグメントをコードするポリヌクレオチド；（c）配列番号14または配列番号23に記載のアミノ酸配列において、1以上のアミノ酸が、置換、付加および欠失からなる群より選択される少なくとも1つの変異を有する改変体ポリペプチドであって、生物学的活性を有する改変体ポリペプチドをコードする、ポリヌクレオチド；（d）配列番号13または配列番号22に記載の塩基配列のスプライス変異体または対立遺伝子変異体である、ポリヌクレオチ

ド; (e) 配列番号 14 または配列番号 23 に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチドの種相同体をコードする、ポリヌクレオチド; (f) (a) ~ (e) のいずれか 1 つのポリヌクレオチドにストリンジェント条件下でハイブリダイズし、かつ生物学的活性を有するポリペプチドをコードするポリヌクレオチド; または (g) (a) ~ (e) のいずれか 1 つのポリヌクレオチドまたはその相補配列に対する同一性が少なくとも 70% である塩基配列からなり、かつ、生物学的活性を有するポリペプチドをコードするポリヌクレオチド、を含む。

【0691】

1 つの好ましい実施形態において、上記 (c) における置換、付加および欠失の数は、限定され、例えば、50 以下、40 以下、30 以下、20 以下、15 以下、10 以下、9 以下、8 以下、7 以下、6 以下、5 以下、4 以下、3 以下、2 以下であることが好ましい。より少ない数の置換、付加および欠失が好ましいが、生物学的活性を保持する（好ましくは、P21 遺伝子産物と類似するかまたは実質的に同一の活性を有する）限り、多い数であってもよい。

【0692】

別の好ましい実施形態において、上記改変体ポリペプチドが有する生物学的活性としては、例えば、配列番号 14 または配列番号 23 に記載のアミノ酸配列からなるポリペプチドまたはそのフラグメントに対して特異的な抗体との相互作用、Rho キナーゼとの相互作用、Rho GTP の機能調節の調節などが挙げられるがそれらに限定されない。これらは例えば、免疫学的アッセイ、リン酸化定量などによって測定することができる。

【0693】

別の好ましい実施形態において、対立遺伝子変異体は、配列番号 13 または配列番号 22 に示す核酸配列と少なくとも 99% の相同性を有することが有利である。

【0694】

上記種相同体は、その種の遺伝子配列データベースが存在する場合、そのデータベースに対して、本発明の P21 をクエリ配列として検索することによって同定することができる。あるいは、本発明の P21 の全部または一部をプローブま

たはプライマーとして、その種の遺伝子ライブラリーをスクリーニングすることによって同定することができる。そのような同定方法は、当該分野において周知であり、本明細書において記載される文献にも記載されている。種相同体は、例えば、配列番号 13 または配列番号 22 に示す核酸配列と少なくとも約 30% の相同性を有することが好ましい。

【0695】

好ましい実施形態において、上記 (a) ~ (e) のいずれか 1 つのポリヌクレオチドまたはその相補配列に対する同一性は、少なくとも約 80% であり得、より好ましくは少なくとも約 90% であり得、さらに好ましくは少なくとも約 98% であり得、もっとも好ましくは少なくとも約 99% であり得る。

【0696】

好ましい実施形態において、本発明の P21 をコードする核酸分子またはそのフラグメントおよび改変体は、少なくとも 8 の連続するヌクレオチド長であり得る。本発明の核酸分子は、本発明の使用目的によってその適切なヌクレオチド長が変動し得る。より好ましくは、本発明の核酸分子は、少なくとも 10 の連続するヌクレオチド長であり得、さらに好ましくは少なくとも 15 の連続するヌクレオチド長であり得、なお好ましくは少なくとも 20 の連続するヌクレオチド長であり得る。これらのヌクレオチド長の下限は、具体的に挙げた数字のほかに、それらの間の数 (例えば、9、11、12、13、14、16 など) あるいは、それ以上の数 (例えば、21、22、... 30、など) であってもよい。本発明の核酸分子は、目的とする用途 (例えば、アンチセンス、RNAi、マーカー、プライマー、プローブ、所定の因子と相互作用し得ること) として使用することができる限り、その上限の長さは、配列番号 13 または配列番号 22 に示す配列の全長であってもよく、それを超える長さであってもよい。あるいは、プライマーとして使用する場合は、通常少なくとも約 8 のヌクレオチド長であり得、好ましくは約 10 ヌクレオチド長であり得る。プローブとして使用する場合は、通常少なくとも約 15 ヌクレオチド長であり得、好ましくは約 17 ヌクレオチド長であり得る。

【0697】

1つの実施形態において、P21をコードする核酸分子、またはそのフラグメントもしくは改変体は、配列番号13または配列番号22の核酸配列の1位～420位または1位～492位を含む。より好ましくは、P21をコードする核酸分子、またはそのフラグメントもしくは改変体は、配列番号13または配列番号22の核酸配列の1位から420位または全範囲からなる。

【0698】

1つの実施形態において、p21ポリペプチド、またはそのフラグメントもしくは改変体は、配列番号13または配列番号22のヌクレオチド1位～420位または1位～492位を含む。より好ましくは、p21、またはそのフラグメントもしくは改変体は、配列番号13または配列番号22のヌクレオチド1位～420位または1位～492位、全範囲からなることが有利であり得る。別の好ましい実施形態では、p21、またはそのフラグメントもしくは改変体は、配列番号13または配列番号22のヌクレオチド1位～420位を含み、421位以降を含まないことが有利であり得る（本明細書においてこの形態をΔNLS p21ともいう）。ΔNLSとは、核移行シグナルの略称であり、核移行シグナルを機能させないような変異を挿入することによって、p21またはそのフラグメントもしくは改変体が細胞質のとどまることができ、それによって、p75シグナル伝達機構を抑制または阻害することができ、本発明の効果がより有利に達成され得る。

【0699】

好ましい実施形態において、本発明の組成物に含まれるp21ポリペプチドをコードする核酸は、さらに、PTDドメインをコードする核酸配列を含むことが有利であり得る。PTDドメインの代表的配列としては、YGRKKRRQRRR（配列番号20）をコードする任意の核酸およびその改変体が挙げられるがそれ限定されない。PTDドメインをコードする核酸配列は、その細胞質移行活性が発揮される限り、神経再生因子（例えば、p21ポリペプチド）をコードする核酸配列とどのような位置関係に配置されてもよいが、好ましい実施形態において、PTDドメインをコードする核酸配列は、p21ポリペプチドをコードする核酸配列の3'末端または5'末端に配置されることが有利であり得る。

【0700】

1つの実施形態において、処置されるべき神経の疾患、障害または状態は、本明細書において他の場所において記載されており、例えば、アルツハイマー病、脊髄損傷、脳血管障害、脳外傷などを含む。好ましくは、本発明の組成物が対象とする神経の疾患、障害または状態は、アルツハイマー病であり得る。他に好ましい実施形態では、本発明の組成物が対象とする神経の疾患、障害または状態は、脊髄損傷、脳血管障害、脳外傷であり得る。

【0701】

(PTDドメインの神経再生への作用)

別の局面において、本発明は、TAT PTDドメインおよび神経再生因子を含む、神経を再生するための組成物を提供する。ここで、TAT PTDドメインは、代表的に、YGRKKRRQRRR (配列番号20) で示されるアミノ酸配列またはその改変体 (例えば、1または数個のアミノ酸の置換、付加および/または欠失) が挙げられるがそれに限定されない。本発明の組成物において使用される神経再生因子は、Pep5ポリペプチド、Pep5ポリペプチドをコードする核酸分子、p75ポリペプチドに対して特異的に相互作用する因子、p75ポリペプチドをコードする核酸分子に対して特異的に相互作用する因子、p75細胞外ドメインポリペプチド、p75細胞外ドメインポリペプチドをコードする核酸分子、RhogDIポリペプチドに対して特異的に相互作用する因子、RhogDIポリペプチドをコードする核酸分子に対して特異的に相互作用する因子、RhogDIポリペプチド、RhogDIポリペプチドをコードする核酸分子、MAGポリペプチドに対して特異的に相互作用する因子、MAGポリペプチドをコードする核酸分子に対して特異的に相互作用する因子、p21ポリペプチド、p21をコードする核酸分子、Rhogポリペプチドに対して特異的に相互作用する因子、Rhogポリペプチドをコードする核酸分子に対して特異的に相互作用する因子、Rhogキナーゼに対して特異的に相互作用する因子およびRhogキナーゼをコードする核酸分子に対して特異的に相互作用する因子ならびにその改変体およびフラグメントから選択され得るがそれに限定されない。

【0702】

したがって、別の局面において、本発明は、神経突起伸展の阻害を破壊するための組成物を提供する。

【0703】

(PTDドメインの神経再生医薬または補助剤としての利用)

別の局面において、本発明は、PTDドメインおよび神経再生因子を含む、神経を再生するための組成物を提供する。PTDドメインは、タンパク質の細胞内導入を促す作用を有し、細胞内に導入することが困難な分子の細胞内への導入に用いられているが、神経再生に用いられたことはなかった。したがって、本発明はまた、PTDドメインの新規用途（すなわち、神経再生組成物の改良剤）を提供する。このようなPTDは、代表的に、YGRKKRRQRRR（配列番号20）で示されるアミノ酸配列またはその改変体もしくはフラグメントを含むが、それに限定されない。

【0704】

本発明のPTDドメインを用いる神経再生組成物において含有される神経再生因子は、どのようなものであってもよいが、好ましくは、p75シグナル伝達経路を阻害する因子であり得る。このような因子は、ポリペプチド、ポリヌクレオチド、抗体、アンチセンス、RNAiなどであってもよいが、それに限定されない。

【0705】

別の好ましい実施形態において、本発明のPTDドメインを用いる神経再生組成物において含有される神経再生因子は、p75シグナル伝達経路における伝達因子もしくはその改変体もしくはフラグメント、またはp75シグナル伝達経路における伝達因子に対して特異的に相互作用する因子などであり得るがそれに限定されない。このような改変体およびフラグメントは好ましくは、もとの伝達因子と機能的に同等であるか少なくとも1つの機能を保持していることが有利である場合があるが、それに限定されず、所望により、機能を除去されていることが好ましくあり得る。

【0706】

別の好ましい実施形態において、本発明のPTDドメインを用いる神経再生組

成物において p 7 5 シグナル伝達経路における伝達因子は、MAG、G T 1 b、p 7 5、R h o G D I、R h o、p 2 1 および R h o キナーゼからなる群より選択される少なくとも 1 つの伝達因子を含む。より好ましくは、細胞内において作用する因子であることが有利である。そのような細胞内で作用する因子としては、例えば、R h o G D I、R h o、R h o キナーゼが挙げられるがそれらに限定されない。そのような R h o G D I、R h o、R h o キナーゼの阻害因子としては、例えば、p 2 1 またはその改変体もしくはフラグメント、P e p 5 またはその改変体もしくはフラグメントが挙げられるがそれらに限定されない。このような因子と P T D ドメインとを組み合わせることで、本発明において初めて見出された神経再生効果が顕著に増強されることが明らかになった。このような効果は、従来見出されておらず、驚くべき効果といえる。

【0707】

別の好ましい実施形態において、本発明の P T D ドメインを用いる神経再生組成物において、神経再生因子は、MAG と G T 1 b との相互作用の阻害、G T 1 b と p 7 5 との相互作用の阻害、p 7 5 と R h o との相互作用の阻害、p 7 5 と R h o G D I との相互作用の阻害、R h o と R h o G D I との相互作用の維持または強化、R h o G D P から R h o G T P への変換阻害、R h o と R h o キナーゼとの相互作用の阻害および R h o キナーゼの活性阻害からなる群より選択される少なくとも 1 つの作用を有し得る。このような作用は、関連する 2 つまたはそれを超える分子を調製し、それらと本発明の組成物とを接触させ、相互作用すべき分子の相互作用に変化があるかどうかを判定することによってみることができる。

【0708】

別の好ましい実施形態において、本発明の P T D ドメインを用いる神経再生組成物において、神経再生因子は、MAG と G T 1 b との相互作用を抑制または消失する因子、G T 1 b と p 7 5 との相互作用を抑制または消失する因子、p 7 5 と R h o G D I との相互作用を抑制または消失する因子、p 7 5 と R h o との相互作用を抑制または消失する因子、R h o と R h o G D I との相互作用を維持または強化する因子、R h o G D P から R h o G T P への変換を阻害する因子

、R h o と R h o キナーゼとの相互作用を阻害する因子、および R h o キナーゼの活性を阻害する因子からなる群より選択される少なくとも 1 つの因子を含み得る。このような因子は、ポリペプチド、ポリヌクレオチド、低分子、抗体、R N A i、アンチセンスなどであり得るがそれらに限定されない。このような因子の詳細な説明は、本明細書の他の場所に記載されている。

【0709】

別の好ましい実施形態において、本発明の P T D ドメインを用いる神経再生組成物において、神経再生因子は、P e p 5 ポリペプチド、P e p 5 ポリペプチドをコードする核酸分子、p 7 5 ポリペプチドに対して特異的に相互作用する因子、p 7 5 ポリペプチドをコードする核酸分子に対して特異的に相互作用する因子、p 7 5 細胞外ドメインポリペプチド、p 7 5 細胞外ドメインポリペプチドをコードする核酸分子、R h o G D I ポリペプチドに対して特異的に相互作用する因子、R h o G D I ポリペプチドをコードする核酸分子に対して特異的に相互作用する因子、R h o G D I ポリペプチド、R h o G D I ポリペプチドをコードする核酸分子、M A G ポリペプチドに対して特異的に相互作用する因子、M A G ポリペプチドをコードする核酸分子に対して特異的に相互作用する因子、p 2 1 ポリペプチド、p 2 1 をコードする核酸分子、R h o ポリペプチドに対して特異的に相互作用する因子、R h o ポリペプチドをコードする核酸分子に対して特異的に相互作用する因子、R h o キナーゼに対して特異的に相互作用する因子および R h o キナーゼをコードする核酸分子に対して特異的に相互作用する因子ならびにその改変体およびフラグメントからなる群より選択される因子を含み得る。このような因子は、ポリペプチド、ポリヌクレオチド、低分子、抗体、R N A i、アンチセンスなどであり得るがそれらに限定されない。このような因子の詳細な説明は、本明細書の他の場所に記載されている。

【0710】

別の好ましい実施形態において、P T D ドメインは、Y G R K K R R Q R R R またはその 1 または数個の置換、付加および／もしくは欠失を含むアミノ酸配列を有していてもよい。この場合、このような置換、付加および／もしくは欠失によって、細胞質への導入活性が失われていないことが好ましい。そのような導入

活性は、このドメインを含むポリペプチドをコードする核酸分子で形質転換した細胞内で所望のポリペプチドがどこで発現されるかを判定することによって見出すことができる。

【0711】

好ましい実施形態において、PTDドメインは、前記神経再生因子のC末端側、N末端側などに配置されることが有利であり得る。このような場所に配置されることによって、神経再生因子の活性を損なうことなく、所望の活性（すなわち、細胞質内への導入）が行うことができるからである。したがって、好ましくは、本発明のPTDを用いた神経再生組成物において含有される神経再生因子は、細胞質に留まり得る。留まり得る時間としては、例えば、少なくとも数時間もしくは数日または数ヶ月に及び得るが、本発明では、神経再生の効果が発揮される限り、どのように短いまたは長い期間細胞質に留まり得る効果を有していても、そのような組成物を用いることができる。

【0712】

（PTDの核酸形態の神経再生医薬または補助剤としての利用）

別の局面において、本発明は、PTDドメインおよび神経再生因子であって核酸形態のものを含む、神経を再生するための組成物を提供する。したがって、本発明は、PTDドメインをコードする核酸配列および神経再生因子をコードする核酸配列を含む核酸分子を含む、神経を再生するための組成物を提供する。このような核酸分子は、上述したタンパク質分子同様、改善された神経再生効果を達成した。したがって、本発明のこの形態もまた、予想外の驚くべき効果を達成することができる。本発明はまた、PTDドメインをコードする核酸分子の新規用途（すなわち、神経再生組成物の改良剤）を提供する。このようなPTDは、代表的に、YGRKKRRQRRR（配列番号20）で示されるアミノ酸配列をコードする核酸配列またはその改変体もしくはフラグメントを含むが、それに限定されない。あるいは、そのような核酸分子は、HIV TATの核酸配列（配列番号21）に由来してもよい。

【0713】

本発明のPTDドメインをコードする核酸配列を用いる神経再生組成物におい

て含有される神経再生因子をコードする核酸配列は、どのようなものであってもよいが、好ましくは、p75シグナル伝達経路を阻害するものをコードすることが有利であり得る。

【0714】

本発明のPTDドメインをコードする核酸配列を用いる神経再生組成物において含有される神経再生因子をコードする核酸配列は、p75シグナル伝達経路における伝達因子もしくはその改変体もしくはフラグメント、またはp75シグナル伝達経路における伝達因子に対して特異的に相互作用する因子をコードすることが好ましい。このような因子は、ポリペプチド、抗体などであり得るがそれらに限定されない。このような因子の詳細な説明は、本明細書の他の場所に記載されている。

【0715】

本発明のPTDドメインをコードする核酸配列を用いる神経再生組成物において、標的とされるp75シグナル伝達経路における伝達因子は、MAG、GTLb、p75、Rho GDI、Rho、p21およびRhoキナーゼからなる群より選択される少なくとも1つの伝達因子を含み得る。p75シグナル伝達経路を阻害する因子とPTDドメインとを組み合わせることで、本発明において初めて見出された神経再生効果が顕著に増強されることが明らかになった。このような効果は、従来見出されておらず、驚くべき効果といえる。

【0716】

本発明のPTDドメインをコードする核酸配列を用いる神経再生組成物において用いられる神経再生因子は、MAGとGTLbとの相互作用の阻害、GTLbとp75との相互作用の阻害、p75とRhoとの相互作用の阻害、p75とRho GDIとの相互作用の阻害、RhoとRho GDIとの相互作用の維持または強化、Rho GDPからRho GTPへの変換阻害、RhoとRhoキナーゼとの相互作用の阻害およびRhoキナーゼの活性阻害からなる群より選択される少なくとも1つの作用を有し得る。このような作用は、関連する2つまたはそれを超える分子を調製し、それらと本発明の組成物に含まれるべき神経再生因子をコードする核酸分子を発現させたものとを接触させ、相互作用すべき分子の

相互作用に変化があるかどうかを判定することによってみることができる。

【0717】

本発明のPTDドメインをコードする核酸配列を用いる神経再生組成物において用いられる神経再生因子は、MAGとG T 1 bとの相互作用を抑制または消失する因子、G T 1 bとp 7 5との相互作用を抑制または消失する因子、p 7 5とR h o G D Iとの相互作用を抑制または消失する因子、p 7 5とR h oとの相互作用を抑制または消失する因子、R h oとR h o G D Iとの相互作用を維持または強化する因子、R h o G D PからR h o G T Pへの変換を阻害する因子、R h oとR h oキナーゼとの相互作用を阻害する因子、およびR h oキナーゼの活性を阻害する因子からなる群より選択される少なくとも1つの因子を含む。好ましくは、このような因子は、PTDと連結可能なポリペプチドであることが有利である。

【0718】

本発明のPTDドメインをコードする核酸配列を用いる神経再生組成物において用いられる神経再生因子は、P e p 5ポリペプチド、p 7 5ポリペプチドに対して特異的に相互作用する因子、p 7 5ポリペプチドをコードする核酸分子に対して特異的に相互作用する因子、p 7 5細胞外ドメインポリペプチド、R h o G D Iポリペプチド、MAGポリペプチドに対して特異的に相互作用する因子、MAGポリペプチドをコードする核酸分子に対して特異的に相互作用する因子、p 2 1ポリペプチド、R h oポリペプチドに対して特異的に相互作用する因子、R h oポリペプチドをコードする核酸分子に対して特異的に相互作用する因子、R h oキナーゼに対して特異的に相互作用する因子およびR h oキナーゼをコードする核酸分子に対して特異的に相互作用する因子ならびにその改変体およびフラグメントからなる群より選択される因子を含む。好ましくは、このような因子は、PTDと連結可能なポリペプチドであることが有利である。

【0719】

本発明のPTDドメインをコードする核酸配列を用いる神経再生組成物において、PTDドメインは、Y G R K K R R Q R R Rまたはその1または数個の置換、付加および／もしくは欠失を含むアミノ酸配列を有する。

【0720】

本発明のPTDドメインをコードする核酸配列を用いる神経再生組成物において、PTDドメインは、前記神経再生因子のC末端側、N末端側（すなわち、核酸配列の3'末端、5'末端）などに配置されることが有利であり得る。このような場所に配置されることによって、神経再生因子の活性を損なうことなく、所望の活性（すなわち、細胞質内への導入）が行うことができるからである。したがって、好ましくは、本発明のPTDを用いた神経再生組成物において含有される神経再生因子は、細胞質に留まり得る。留まり得る時間としては、例えば、少なくとも数時間もしくは数日または数ヶ月に及び得るが、本発明では、神経再生の効果が発揮される限り、どのように短いまたは長い期間細胞質に留まり得る効果を有していても、そのような組成物を用いることができる。

【0721】

（神経再生法）

別の局面において、本発明は、神経を再生するための方法を提供する。この方法は、p75シグナル伝達経路を阻害する工程を含む。本発明では、p75シグナル伝達経路を阻害することによって神経が再生することが見出されたのは、従来の技術から予測されていなかったことであり、予想外の効果といえる。したがって、p75シグナル伝達経路を阻害することによる神経再生機構を用いて、種々の処置を行うことができ、そのような処置としては、神経疾患、障害または異常状態の処置、予防、診断、予後などが挙げられるがそれらに限定されない。

【0722】

好ましくは、p75シグナル伝達経路は、神経再生が所望される部位における神経細胞のものであり、対象となる神経細胞におけるp75シグナル伝達経路が阻害または抑制されることによって、神経遮断が減少または阻害（破壊）され、所望の場所において有利に神経再生を生じさせることができる。

【0723】

1つの実施形態において、p75シグナル伝達経路の阻害は、p75シグナル伝達経路における伝達因子もしくはその改変体もしくはフラグメント（好ましくは、このような改変体もしくはフラグメントはその伝達因子と同様の機能を有す

る)、または p 7 5 シグナル伝達経路における伝達因子に対して特異的に相互作用する因子を再生に有効な量で提供することによって達成され得る。

【0724】

別の実施形態において、p 7 5 シグナル伝達経路における伝達因子は、MAG、G T 1 b、p 7 5、R h o G D I、R h o、p 2 1 および R h o キナーゼからなる群より選択される少なくとも 1 つの伝達因子を含むがそれに限定されない。このような伝達因子を阻害または抑制する方法としては、その伝達因子またはそれをコードする核酸分子に対して特異的に相互作用する因子を投与または提供する方法、その伝達因子の発現を減少、抑制または阻害する方法、その伝達因子の機能が阻害されるような変異を導入する方法などが挙げられるがそれらに限定されない。

【0725】

別の実施形態において、p 7 5 シグナル伝達経路の阻害は、MAG と G T 1 b との相互作用の阻害、G T 1 b と p 7 5 との相互作用の阻害、p 7 5 と R h o との相互作用の阻害、p 7 5 と R h o G D I との相互作用の阻害、R h o と R h o G D I との相互作用の維持または強化、R h o G D P から R h o G T P への変換阻害、R h o と R h o キナーゼとの相互作用の阻害および R h o キナーゼの活性阻害からなる群より選択され得るがそれに限定されない。ここで、相互作用の阻害は、インヒビターを投与すること、特異的に相互作用する因子を提供することなどによって達成され得る。相互作用の維持または強化は、相互作用を弱める因子を排除すること、あるいは、関連する分子の量を増加させることなどによって達成され得るがそれらに限定されない。

【0726】

別の実施形態において、p 7 5 シグナル伝達経路の阻害は、MAG と G T 1 b との相互作用を抑制または消失する因子、G T 1 b と p 7 5 との相互作用を抑制または消失する因子、p 7 5 と R h o G D I との相互作用を抑制または消失する因子、p 7 5 と R h o との相互作用を抑制または消失する因子、R h o と R h o G D I との相互作用を維持または強化する因子、R h o G D P から R h o G T P への変換を阻害する因子、R h o と R h o キナーゼとの相互作用を阻害する

因子、および R h o キナーゼの活性を阻害する因子からなる群より選択される少なくとも 1 つの因子を再生に有効な量で提供することによって達成され得る。

【0727】

本発明の神経再生法において、神経の再生は、インビボまたはインビトロで行われ得る。インビボで行われる場合は、体内で直接神経の治療または予防などが行われ得る。インビトロで行われる場合は、神経集団を調製することができる。

【0728】

1 つの実施形態において、神経は、脊髄損傷、脳血管障害または脳外傷を含む状態にある。あるいは、処置される神経は、本明細書において列挙される任意の神経疾患、神経障害または異常状態であり得る。そのような疾患、障害または状態としては、例えば、大脳損傷、脊髄損傷、発作、脱髄疾患（例えば、多発性硬化症）、単語症脱髄、脳脊髄炎、多病巣性白質脳症、汎脳炎、マルキアファーマービニャーミ病、海綿状変性、アレグザンダー病、キャナヴァン病、異染性白質萎縮症およびクラッペ病が挙げられるがそれらに限定されない。

【0729】

別の実施形態において、本発明の神経再生法における p 7 5 シグナル伝達経路を阻害する工程は、再生に有効な量の、P e p 5 ポリペプチド、P e p 5 ポリペプチドをコードする核酸分子、p 7 5 ポリペプチドに対して特異的に相互作用する因子、p 7 5 ポリペプチドをコードする核酸分子に対して特異的に相互作用する因子、p 7 5 細胞外ドメインポリペプチド、p 7 5 細胞外ドメインポリペプチドをコードする核酸分子、R h o G D I ポリペプチドに対して特異的に相互作用する因子、R h o G D I ポリペプチドをコードする核酸分子に対して特異的に相互作用する因子、R h o G D I ポリペプチド、R h o G D I ポリペプチドをコードする核酸分子、M A G ポリペプチドに対して特異的に相互作用する因子、M A G ポリペプチドをコードする核酸分子に対して特異的に相互作用する因子、p 2 1 ポリペプチド、p 2 1 をコードする核酸分子、R h o ポリペプチドに対して特異的に相互作用する因子、R h o ポリペプチドをコードする核酸分子に対して特異的に相互作用する因子、R h o キナーゼに対して特異的に相互作用する因子および R h o キナーゼをコードする核酸分子に対して特異的に相互作用す

る因子ならびにその改変体およびフラグメントからなる群より選択される少なくとも1つの分子を含む組成物を、所望の神経に与える工程によって達成され得る。

【0730】

本発明の神経再生法において、神経再生を担う因子は、PTDドメインに結合して提供され得る。

【0731】

本発明の神経再生法において、再生に有効な量は、当該分野において周知の技法を用いて当業者が種々のパラメータを参酌しながら決定することができ、そのような量を決定するためには、例えば、使用目的、対象疾患（種類、重篤度など）、患者の年齢、体重、性別、既往歴、細胞の形態または種類などを考慮して、当業者が容易に決定することができる（神経内科治療ガイド、小川紀雄著、中外医学社 1994を参照）。本発明では、神経の再生が、p75シグナル伝達経路を遮断することによって（例えば、p75シグナル伝達経路の関連因子を介する）、神経突起伸展の阻害が破壊されることによることが明らかになった。このようなシグナル伝達経路の遮断による神経再生の効果は従来知られておらず、したがって、本発明は、従来技術より優れた効果を示す。

【0732】

1つの実施形態では、Pep5ポリペプチド、Pep5ポリペプチドをコードする核酸分子、p75ポリペプチドに対して特異的に相互作用する因子、p75ポリペプチドをコードする核酸分子に対して特異的に相互作用する因子、p75細胞外ドメインポリペプチド、p75細胞外ドメインポリペプチドをコードする核酸分子、RhogDIポリペプチドに対して特異的に相互作用する因子、RhogDIポリペプチドをコードする核酸分子に対して特異的に相互作用する因子、RhogDIポリペプチド、RhogDIポリペプチドをコードする核酸分子、MAGポリペプチドに対して特異的に相互作用する因子、MAGポリペプチドをコードする核酸分子に対して特異的に相互作用する因子、p21ポリペプチド、p21をコードする核酸分子、Rhop21ポリペプチドに対して特異的に相互作用する因子、Rhop21ポリペプチドをコードする核酸分子に対して特異的に

相互作用する因子、R h o キナーゼに対して特異的に相互作用する因子および R h o キナーゼをコードする核酸分子に対して特異的に相互作用する因子ならびにその改変体およびフラグメントは、本明細書において上記に記載されるような形態をとることができる。本発明では、神経の再生が、p 7 5 シグナル伝達経路を遮断することによって、神経突起伸展の阻害が破壊されることによることが明らかになった。このようなシグナル伝達経路の遮断による神経再生の効果は従来知られておらず、したがって、本発明は、従来技術より優れた効果を示す。特に、P e p 5 ポリペプチド、P e p 5 ポリペプチドをコードする核酸分子、p 7 5 ポリペプチドに対して特異的に相互作用する因子、p 7 5 ポリペプチドをコードする核酸分子に対して特異的に相互作用する因子、p 7 5 細胞外ドメインポリペプチド、p 7 5 細胞外ドメインポリペプチドをコードする核酸分子、R h o G D I ポリペプチドに対して特異的に相互作用する因子、R h o G D I ポリペプチドをコードする核酸分子に対して特異的に相互作用する因子、R h o G D I ポリペプチド、R h o G D I ポリペプチドをコードする核酸分子、M A G ポリペプチドに対して特異的に相互作用する因子、M A G ポリペプチドをコードする核酸分子に対して特異的に相互作用する因子、p 2 1 ポリペプチド、p 2 1 をコードする核酸分子、R h o ポリペプチドに対して特異的に相互作用する因子、R h o ポリペプチドをコードする核酸分子に対して特異的に相互作用する因子、R h o キナーゼに対して特異的に相互作用する因子および R h o キナーゼをコードする核酸分子に対して特異的に相互作用する因子ならびにその改変体およびフラグメントは、複数用いることが好ましくあり得る。そのような場合、種々の組み合わせが利用され得る。好ましくは、2 つ、3 つあるいは 4 つのポリペプチド、ポリヌクレオチドおよび／または因子を用いることができる。別の好ましい実施形態では、経路上の複数の分子が阻害されることが有利であり得る。

【0733】

別の局面において、本発明はまた、神経を再生するための組成物を提供する。この組成物は、再生に有効な量の p 7 5 シグナル伝達経路を阻害する因子を含む。このような組成物は、本明細書に記載されるように、当該分野において周知の技術を用いて処方することができる。

【0734】

1つの実施形態において、p75シグナル伝達経路を阻害する因子は、p75シグナル伝達経路における伝達因子もしくはその改変体もしくはフラグメント（好ましくは、このような改変体もしくはフラグメントはその伝達因子と同様の機能を有する）、またはp75シグナル伝達経路における伝達因子に対して特異的に相互作用する因子であり得、この因子は、本発明の組成物において、再生に有効な量で含有される。

【0735】

別の実施形態において、p75シグナル伝達経路における伝達因子は、MAG、GTLb、p75、Rho GDI、Rho、p21およびRhoキナーゼからなる群より選択される少なくとも1つの伝達因子を含むがそれ限定されない。

【0736】

別の実施形態において、p75シグナル伝達経路を阻害する因子は、MAGとGTLbとの相互作用の阻害、GTLbとp75との相互作用の阻害、p75とRhoとの相互作用の阻害、p75とRho GDIとの相互作用の阻害、RhoとRho GDIとの相互作用の維持または強化、RhoGDPからRhoGTPへの変換阻害、RhoとRhoキナーゼとの相互作用の阻害およびRhoキナーゼの活性阻害からなる群より選択される活性を有し得る。

【0737】

別の実施形態において、p75シグナル伝達経路を阻害する因子は、MAGとGTLbとの相互作用を抑制または消失する因子、GTLbとp75との相互作用を抑制または消失する因子、p75とRho GDIとの相互作用を抑制または消失する因子、p75とRhoとの相互作用を抑制または消失する因子、RhoとRho GDIとの相互作用を維持または強化する因子、RhoGDPからRhoGTPへの変換を阻害する因子、RhoとRhoキナーゼとの相互作用を阻害する因子、およびRhoキナーゼの活性を阻害する因子からなる群より選択される少なくとも1つの因子であり得る。このような因子は、再生に有効な量で含有され得る。

【0738】

別の実施形態において、p75シグナル伝達経路を阻害する因子は、再生に有効な量の、Pep5ポリペプチド、Pep5ポリペプチドをコードする核酸分子、p75ポリペプチドに対して特異的に相互作用する因子、p75ポリペプチドをコードする核酸分子に対して特異的に相互作用する因子、p75細胞外ドメインポリペプチド、p75細胞外ドメインポリペプチドをコードする核酸分子、RhogDIポリペプチドに対して特異的に相互作用する因子、RhogDIポリペプチドをコードする核酸分子に対して特異的に相互作用する因子、RhogDIポリペプチド、RhogDIポリペプチドをコードする核酸分子、MAGポリペプチドに対して特異的に相互作用する因子、MAGポリペプチドをコードする核酸分子に対して特異的に相互作用する因子、p21ポリペプチド、p21をコードする核酸分子、Rhopolポリペプチドに対して特異的に相互作用する因子、Rhopolポリペプチドをコードする核酸分子に対して特異的に相互作用する因子、Rhokinナーゼに対して特異的に相互作用する因子およびRhokinナーゼをコードする核酸分子に対して特異的に相互作用する因子ならびにその改変体およびフラグメントからなる群より選択される少なくとも1つの分子を含む。ここで、再生に有効な量は、当該分野において周知の技法を用いて当業者が種々のパラメータを参酌しながら決定することができ、そのような量を決定するためには、例えば、使用目的、対象疾患（種類、重篤度など）、患者の年齢、体重、性別、既往歴、細胞の形態または種類などを考慮して、当業者が容易に決定することができる。

【0739】

別の実施形態において、p75シグナル伝達経路を阻害する因子は、診断、予防、処置または予後上有効な量の、診断、予防、処置または予後に有効な量の、Pep5ポリペプチド、Pep5ポリペプチドをコードする核酸分子、p75ポリペプチドに対して特異的に相互作用する因子、p75ポリペプチドをコードする核酸分子に対して特異的に相互作用する因子、p75細胞外ドメインポリペプチド、p75細胞外ドメインポリペプチドをコードする核酸分子、RhogDIポリペプチドに対して特異的に相互作用する因子、RhogDIポリペプチ

ドをコードする核酸分子に対して特異的に相互作用する因子、R h o G D I ポリペプチド、R h o G D I ポリペプチドをコードする核酸分子、M A G ポリペプチドに対して特異的に相互作用する因子、M A G ポリペプチドをコードする核酸分子に対して特異的に相互作用する因子、p 2 1 ポリペプチド、p 2 1 をコードする核酸分子、R h o ポリペプチドに対して特異的に相互作用する因子、R h o ポリペプチドをコードする核酸分子に対して特異的に相互作用する因子、R h o キナーゼに対して特異的に相互作用する因子およびR h o キナーゼをコードする核酸分子に対して特異的に相互作用する因子ならびにその改変体およびフラグメントからなる群より選択される少なくとも1つの分子を含む。ここで、診断、予防、処置または予後上有効な量は、当該分野において周知の技法を用いて当業者が種々のパラメータを参酌しながら決定することができ、そのような量を決定するためには、例えば、使用目的、対象疾患（種類、重篤度など）、患者の年齢、体重、性別、既往歴、細胞の形態または種類などを考慮して、当業者が容易に決定することができる。

【0740】

別の好ましい実施形態では、本発明はまた、P e p 5 ポリペプチド、P e p 5 ポリペプチドをコードする核酸分子、p 7 5 ポリペプチドに対して特異的に相互作用する因子、p 7 5 ポリペプチドをコードする核酸分子に対して特異的に相互作用する因子、p 7 5 細胞外ドメインポリペプチド、p 7 5 細胞外ドメインポリペプチドをコードする核酸分子、R h o G D I ポリペプチド、R h o G D I ポリペプチドをコードする核酸分子、M A G ポリペプチドに対して特異的に相互作用する因子、M A G ポリペプチドをコードする核酸分子に対して特異的に相互作用する因子、p 2 1 ポリペプチド、p 2 1 をコードする核酸分子、R h o ポリペプチドに対して特異的に相互作用する因子、R h o ポリペプチドをコードする核酸分子に対して特異的に相互作用する因子、R h o キナーゼに対して特異的に相互作用する因子およびR h o キナーゼをコードする核酸分子に対して特異的に相互作用する因子ならびにその改変体およびフラグメントを、複数含み得る。この場合、種々の組み合わせが利用され得る。好ましくは、2つ、3つあるいは4つのポリペプチド、ポリヌクレオチドおよび／または因子を用いることができる

。別の好ましい実施形態では、経路上の複数の分子を阻害する物質を使用することが有利であり得る。

【0741】

本発明の組成物において使用される因子は、PTDドメインを含んでいてもよい。

【0742】

本発明はまた、上述の組成物を備える、神経再生キットにも関する。このようなキットは、本発明の組成物のほか、投与方法を記載した指示書を備え得る。このような指示書は、本明細書の他の場所において記載されている。

【0743】

本発明はまた、p75シグナル伝達経路を阻害する因子の、神経再生医薬の製造のための使用に関する。

【0744】

(神経学的疾患、障害または状態の診断、予防、処置または予後)

別の局面において、本発明は、神経学的疾患、障害または状態の診断、予防、処置または予後のための方法を提供する。この方法は、p75シグナル伝達経路を阻害する工程を含む。本発明では、p75シグナル伝達経路を阻害することによって神経学的疾患、障害または状態の診断、予防、処置または予後に用いることができることが見出されたのは、従来の技術から予測されていなかったことであり、予想外の効果といえる。

【0745】

好ましくは、p75シグナル伝達経路は、神経学的疾患、障害または状態の診断、予防、処置または予後が所望される部位における神経細胞のものであり、対象となる神経細胞におけるp75シグナル伝達経路が阻害または抑制されることによって、神経遮断が減少または阻害（破壊）され、所望の場所において有利に神経再生を生じさせることができる。

【0746】

1つの実施形態において、p75シグナル伝達経路の阻害は、p75シグナル伝達経路における伝達因子もしくはその改変体もしくはフラグメント（好ましく

は、このような改変体もしくはフラグメントはその伝達因子と同様の機能を有する)、または p 7 5 シグナル伝達経路における伝達因子に対して特異的に相互作用する因子を再生に有効な量で提供することによって達成され得る。

【0747】

別の実施形態において、p 7 5 シグナル伝達経路における伝達因子は、MAG、G T 1 b、p 7 5、R h o G D I、R h o、p 2 1 および R h o キナーゼからなる群より選択される少なくとも 1 つの伝達因子を含むがそれに限定されない。このような伝達因子を阻害または抑制する方法としては、その伝達因子またはそれをコードする核酸分子に対して特異的に相互作用する因子を投与または提供する方法、その伝達因子の発現を減少、抑制または阻害する方法、その伝達因子の機能が阻害されるような変異を導入する方法などが挙げられるがそれらに限定されない。

【0748】

別の実施形態において、p 7 5 シグナル伝達経路の阻害は、MAG と G T 1 b との相互作用の阻害、G T 1 b と p 7 5 との相互作用の阻害、p 7 5 と R h o との相互作用の阻害、p 7 5 と R h o G D I との相互作用の阻害、R h o と R h o G D I との相互作用の維持または強化、R h o G D P から R h o G T P への変換阻害、R h o と R h o キナーゼとの相互作用の阻害および R h o キナーゼの活性阻害からなる群より選択され得るがそれに限定されない。ここで、相互作用の阻害は、インヒビターを投与すること、特異的に相互作用する因子を提供することなどによって達成され得る。相互作用の維持または強化は、相互作用を弱める因子を排除すること、あるいは、関連する分子の量を増加させることなどによって達成され得るがそれらに限定されない。

【0749】

別の実施形態において、p 7 5 シグナル伝達経路の阻害は、MAG と G T 1 b との相互作用を抑制または消失する因子、G T 1 b と p 7 5 との相互作用を抑制または消失する因子、p 7 5 と R h o G D I との相互作用を抑制または消失する因子、p 7 5 と R h o との相互作用を抑制または消失する因子、R h o と R h o G D I との相互作用を維持または強化する因子、R h o G D P から R h o G

TPへの変換を阻害する因子、RhoとRhoキナーゼとの相互作用を阻害する因子、およびRhoキナーゼの活性を阻害する因子からなる群より選択される少なくとも1つの因子を再生に有効な量で提供することによって達成され得る。

【0750】

本発明の神経学的疾患、障害または状態の診断、予防、処置または予後のための方法において、神経の再生は、インビボまたはエキソビボで行われ得る。インビボで行われる場合は、体内で直接神経の治療または予防などが行われ得る。エキソビボで行われる場合は、神経集団を調製し、その集団を患者または被検体とができる。

【0751】

1つの実施形態において、神経は、脊髄損傷、脳血管障害または脳外傷を含む状態にある。処置され得る神経疾患、障害または状態は、本明細書において列挙される任意の神経疾患、神経障害または異常状態であり得る。そのような疾患、障害または状態としては、例えば、大脳損傷、脊髄損傷、発作、脱髄疾患（例えば、多発性硬化症）、単語症脱髄、脳脊髄炎、多病巣性白質脳症、汎脳炎、マルキアファーマーバーニャーミ病、海綿状変性、アレグザンダー病、キャナヴァン病、異染性白質萎縮症およびクラッペ病が挙げられるがそれらに限定されない。

【0752】

別の実施形態において、神経学的疾患、障害または状態の診断、予防、処置または予後のための方法におけるp75シグナル伝達経路を阻害する工程は、再生に有効な量の、Pep5ポリペプチド、Pep5ポリペプチドをコードする核酸分子、p75ポリペプチドに対して特異的に相互作用する因子、p75ポリペプチドをコードする核酸分子に対して特異的に相互作用する因子、p75細胞外ドメインポリペプチド、p75細胞外ドメインポリペプチドをコードする核酸分子、Rho GDIポリペプチドに対して特異的に相互作用する因子、Rho GDIポリペプチドをコードする核酸分子に対して特異的に相互作用する因子、Rho GDIポリペプチド、Rho GDIポリペプチドをコードする核酸分子、MAGポリペプチドに対して特異的に相互作用する因子、MAGポリペプチドをコードする核酸分子に対して特異的に相互作用する因子、p21ポリペプチド

、p21をコードする核酸分子、Rhoポリペプチドに対して特異的に相互作用する因子、Rhoポリペプチドをコードする核酸分子に対して特異的に相互作用する因子、Rhoキナーゼに対して特異的に相互作用する因子およびRhoキナーゼをコードする核酸分子に対して特異的に相互作用する因子ならびにその改変体およびフラグメントからなる群より選択される少なくとも1つの分子を含む組成物を、所望の神経に与える工程によって達成され得る。

【0753】

本発明の神経学的疾患、障害または状態の診断、予防、処置または予後のための方法において、神経再生を担う因子は、PTDドメインに結合して提供され得る。

【0754】

1つの実施形態において、本発明の神経学的疾患、障害または状態の診断、予防、処置または予後のための方法は、再生に有効な量の、Pep5ポリペプチド、Pep5ポリペプチドをコードする核酸分子、p75ポリペプチドに対して特異的に相互作用する因子、p75ポリペプチドをコードする核酸分子に対して特異的に相互作用する因子、p75細胞外ドメインポリペプチド、p75細胞外ドメインポリペプチドをコードする核酸分子、Rho GDIポリペプチドに対して特異的に相互作用する因子、Rho GDIポリペプチドをコードする核酸分子に対して特異的に相互作用する因子、Rho GDIポリペプチド、Rho GDIポリペプチドをコードする核酸分子、MAGポリペプチドに対して特異的に相互作用する因子、MAGポリペプチドをコードする核酸分子に対して特異的に相互作用する因子、p21ポリペプチド、p21をコードする核酸分子、Rhoポリペプチドに対して特異的に相互作用する因子、Rhoポリペプチドをコードする核酸分子に対して特異的に相互作用する因子、Rhoキナーゼに対して特異的に相互作用する因子およびRhoキナーゼをコードする核酸分子に対して特異的に相互作用する因子ならびにその改変体およびフラグメントからなる群より選択される少なくとも1つの分子を含む組成物を該神経に与える工程、を包含する。ここで、再生に有効な量は、当該分野において周知の技法を用いて当業者が種々のパラメータを参酌しながら決定することができ、そのような量を決定する

ためには、例えば、使用目的、対象疾患（種類、重篤度など）、患者の年齢、体重、性別、既往歴、細胞の形態または種類などを考慮して、当業者が容易に決定することができる（神経内科治療ガイド、小川紀雄著、中外医学社 1994を参照）。本発明では、神経の再生が、p 75 シグナル伝達経路を遮断することによって（p 75 シグナル伝達経路の関連因子）、神経突起伸展の阻害が破壊されることによることが明らかになった。このようなシグナル伝達経路の遮断による神経再生の効果は従来知られておらず、したがって、本発明は、従来技術より優れた効果を示す。

【0755】

1つの実施形態では、P e p 5 ポリペプチド、P e p 5 ポリペプチドをコードする核酸分子、p 75 ポリペプチドに対して特異的に相互作用する因子、p 75 ポリペプチドをコードする核酸分子に対して特異的に相互作用する因子、p 75 細胞外ドメインポリペプチド、p 75 細胞外ドメインポリペプチドをコードする核酸分子、R h o G D I ポリペプチドに対して特異的に相互作用する因子、R h o G D I ポリペプチドをコードする核酸分子に対して特異的に相互作用する因子、R h o G D I ポリペプチド、R h o G D I ポリペプチドをコードする核酸分子、M A G ポリペプチドに対して特異的に相互作用する因子、M A G ポリペプチドをコードする核酸分子に対して特異的に相互作用する因子、p 21 ポリペプチド、p 21 をコードする核酸分子、R h o ポリペプチドに対して特異的に相互作用する因子、R h o ポリペプチドをコードする核酸分子に対して特異的に相互作用する因子、R h o キナーゼに対して特異的に相互作用する因子および R h o キナーゼをコードする核酸分子に対して特異的に相互作用する因子ならびにその改変体およびフラグメントは、本明細書において上記に記載されるような形態をとることができる。本発明では、神経の再生が、p 75 シグナル伝達経路を遮断することによって、神経突起伸展の阻害が破壊されることによることが明らかになった。このようなシグナル伝達経路の遮断による神経再生の効果は従来知られておらず、したがって、本発明は、従来技術より優れた効果を示す。特に、P e p 5 ポリペプチド、P e p 5 ポリペプチドをコードする核酸分子、p 75 ポリペプチドに対して特異的に相互作用する因子、p 75 ポリペプチドをコードす

る核酸分子に対して特異的に相互作用する因子、p 75 細胞外ドメインポリペプチド、p 75 細胞外ドメインポリペプチドをコードする核酸分子、R h o G D I ポリペプチドに対して特異的に相互作用する因子、R h o G D I ポリペプチドをコードする核酸分子に対して特異的に相互作用する因子、R h o G D I ポリペプチド、R h o G D I ポリペプチドをコードする核酸分子、M A G ポリペプチドに対して特異的に相互作用する因子、M A G ポリペプチドをコードする核酸分子に対して特異的に相互作用する因子、p 2 1 ポリペプチド、p 2 1 をコードする核酸分子、R h o ポリペプチドに対して特異的に相互作用する因子、R h o ポリペプチドをコードする核酸分子に対して特異的に相互作用する因子、R h o キナーゼに対して特異的に相互作用する因子および R h o キナーゼをコードする核酸分子に対して特異的に相互作用する因子ならびにその改変体およびフラグメントは、複数用いることが好ましくあり得る。そのような場合、種々の組み合わせが利用され得る。好ましくは、2 つ、3 つあるいは 4 つのポリペプチド、ポリヌクレオチドおよび／または因子を用いることができる。別の好ましい実施形態では、経路上の複数の分子が阻害されることが有利であり得る。

【0756】

別の局面において、神経学的疾患、障害または状態の診断、予防、処置または予後のための組成物を提供する。この組成物は、診断、予防、処置または予後に有効な量の p 75 シグナル伝達経路を阻害する因子を含む。このような組成物は、本明細書に記載されるように、当該分野において周知の技術を用いて処方することができる。

【0757】

1 つの実施形態において、p 75 シグナル伝達経路を阻害する因子は、p 75 シグナル伝達経路における伝達因子もしくはその改変体もしくはフラグメント（好ましくは、このような改変体もしくはフラグメントはその伝達因子と同様の機能を有する）、または p 75 シグナル伝達経路における伝達因子に対して特異的に相互作用する因子であり得、この因子は、本発明の組成物において、再生に有効な量で含有される。

【0758】

別の実施形態において、p 7 5 シグナル伝達経路における伝達因子は、MAG、G T 1 b、p 7 5、R h o G D I、R h o、p 2 1 および R h o キナーゼからなる群より選択される少なくとも 1 つの伝達因子を含むがそれに限定されない。

【0759】

別の実施形態において、p 7 5 シグナル伝達経路を阻害する因子は、MAG と G T 1 b との相互作用の阻害、G T 1 b と p 7 5 との相互作用の阻害、p 7 5 と R h o との相互作用の阻害、p 7 5 と R h o G D I との相互作用の阻害、R h o と R h o G D I との相互作用の維持または強化、R h o G D P から R h o G T P への変換阻害、R h o と R h o キナーゼとの相互作用の阻害および R h o キナーゼの活性阻害からなる群より選択される活性を有し得る。

【0760】

別の実施形態において、p 7 5 シグナル伝達経路を阻害する因子は、MAG と G T 1 b との相互作用を抑制または消失する因子、G T 1 b と p 7 5 との相互作用を抑制または消失する因子、p 7 5 と R h o G D I との相互作用を抑制または消失する因子、p 7 5 と R h o との相互作用を抑制または消失する因子、R h o と R h o G D I との相互作用を維持または強化する因子、R h o G D P から R h o G T P への変換を阻害する因子、R h o と R h o キナーゼとの相互作用を阻害する因子、および R h o キナーゼの活性を阻害する因子からなる群より選択される少なくとも 1 つの因子であり得る。このような因子は、診断、予防、処置または予後に有効な量で含有され得る。

【0761】

別の実施形態において、p 7 5 シグナル伝達経路を阻害する因子は、診断、予防、処置または予後に有効な量の、P e p 5 ポリペプチド、P e p 5 ポリペプチドをコードする核酸分子、p 7 5 ポリペプチドに対して特異的に相互作用する因子、p 7 5 ポリペプチドをコードする核酸分子に対して特異的に相互作用する因子、p 7 5 細胞外ドメインポリペプチド、p 7 5 細胞外ドメインポリペプチドをコードする核酸分子、R h o G D I ポリペプチドに対して特異的に相互作用する因子、R h o G D I ポリペプチドをコードする核酸分子に対して特異的に相

相互作用する因子、R h o G D I ポリペプチド、R h o G D I ポリペプチドをコードする核酸分子、M A G ポリペプチドに対して特異的に相互作用する因子、M A G ポリペプチドをコードする核酸分子に対して特異的に相互作用する因子、p 2 1 ポリペプチド、p 2 1 をコードする核酸分子、R h o ポリペプチドに対して特異的に相互作用する因子、R h o ポリペプチドをコードする核酸分子に対して特異的に相互作用する因子、R h o キナーゼに対して特異的に相互作用する因子およびR h o キナーゼをコードする核酸分子に対して特異的に相互作用する因子ならびにその改変体およびフラグメントからなる群より選択される少なくとも1つの分子を含む。ここで、診断、予防、処置または予後上有効な量は、当該分野において周知の技法を用いて当業者が種々のパラメータを参酌しながら決定することができ、そのような量を決定するためには、例えば、使用目的、対象疾患（種類、重篤度など）、患者の年齢、体重、性別、既往歴、細胞の形態または種類などを考慮して、当業者が容易に決定することができる。

【0762】

別の好ましい実施形態では、本発明はまた、P e p 5 ポリペプチド、P e p 5 ポリペプチドをコードする核酸分子、p 7 5 ポリペプチドに対して特異的に相互作用する因子、p 7 5 ポリペプチドをコードする核酸分子に対して特異的に相互作用する因子、p 7 5 細胞外ドメインポリペプチド、p 7 5 細胞外ドメインポリペプチドをコードする核酸分子、R h o G D I ポリペプチドに対して特異的に相互作用する因子、R h o G D I ポリペプチドをコードする核酸分子に対して特異的に相互作用する因子、R h o G D I ポリペプチド、R h o G D I ポリペプチドをコードする核酸分子、M A G ポリペプチドに対して特異的に相互作用する因子、M A G ポリペプチドをコードする核酸分子に対して特異的に相互作用する因子、p 2 1 ポリペプチド、p 2 1 をコードする核酸分子、R h o ポリペプチドに対して特異的に相互作用する因子、R h o ポリペプチドをコードする核酸分子に対して特異的に相互作用する因子、R h o キナーゼに対して特異的に相互作用する因子およびR h o キナーゼをコードする核酸分子に対して特異的に相互作用する因子ならびにその改変体およびフラグメントを、複数含む、神経学的疾患、障害または状態の診断、予防、処置または予後のための組成物を提供する。

この場合、種々の組み合わせが利用され得る。好ましくは、2つ、3つあるいは4つのポリペプチド、ポリヌクレオチドおよび／または因子を用いることができる。別の好ましい実施形態では、経路上の複数の分子を阻害する物質を使用することが有利であり得る。

【0763】

本発明の組成物において使用される因子は、PTDドメインを含んでいてもよい。

【0764】

本発明はまた、上述の組成物を備える、神経学的疾患、障害または状態の診断、予防、処置または予後のためのキットにも関する。このようなキットは、本発明の組成物のほか、投与方法を記載した指示書を備え得る。このような指示書は、本明細書の他の場所において記載されている。

【0765】

本発明はまた、p75シグナル伝達経路を阻害する因子の、神経学的疾患、障害または状態の診断、予防、処置または予後のための医薬の製造のための使用に関する。

【0766】

(神経突起伸展の阻害を破壊または減少する方法)

別の局面において、本発明は、神経突起伸展の阻害を破壊または減少する方法を提供する。この方法は、p75シグナル伝達経路を阻害する工程を含む。本発明では、p75シグナル伝達経路を阻害することによって神経突起伸展の阻害を破壊または減少することができることが見出されたのは、従来の技術から予測されていなかったことであり、予想外の効果といえる。

【0767】

好ましくは、p75シグナル伝達経路は、神経突起伸展の阻害の破壊または減少が所望される部位における神経細胞のものであり、対象となる神経細胞におけるp75シグナル伝達経路が阻害または抑制されることによって、神経遮断が減少または阻害（破壊）され、所望の場所において有利に神経突起伸展の阻害の破壊または減少を生じさせることができる。

【0768】

1つの実施形態において、p75シグナル伝達経路の阻害は、p75シグナル伝達経路における伝達因子もしくはその改変体もしくはフラグメント（好ましくは、このような改変体もしくはフラグメントはその伝達因子と同様の機能を有する）、またはp75シグナル伝達経路における伝達因子に対して特異的に相互作用する因子を再生に有効な量で提供することによって達成され得る。

【0769】

別の実施形態において、p75シグナル伝達経路における伝達因子は、MAG、GTLb、p75、Rho GDI、Rho、p21およびRhoキナーゼからなる群より選択される少なくとも1つの伝達因子を含むがそれに限定されない。このような伝達因子を阻害または抑制する方法としては、その伝達因子またはそれをコードする核酸分子に対して特異的に相互作用する因子を投与または提供する方法、その伝達因子の発現を減少、抑制または阻害する方法、その伝達因子の機能が阻害されるような変異を導入する方法などが挙げられるがそれらに限定されない。

【0770】

別の実施形態において、p75シグナル伝達経路の阻害は、MAGとGTLbとの相互作用の阻害、GTLbとp75との相互作用の阻害、p75とRhoとの相互作用の阻害、p75とRho GDIとの相互作用の阻害、RhoとRho GDIとの相互作用の維持または強化、Rho GDPからRho GTPへの変換阻害、RhoとRhoキナーゼとの相互作用の阻害およびRhoキナーゼの活性阻害からなる群より選択され得るがそれに限定されない。ここで、相互作用の阻害は、インヒビターを投与すること、特異的に相互作用する因子を提供することなどによって達成され得る。相互作用の維持または強化は、相互作用を弱める因子を排除すること、あるいは、関連する分子の量を増加させることなどによって達成され得るがそれらに限定されない。

【0771】

別の実施形態において、p75シグナル伝達経路の阻害は、MAGとGTLbとの相互作用を抑制または消失する因子、GTLbとp75との相互作用を抑制

または消失する因子、p75とRho GDIとの相互作用を抑制または消失する因子、p75とRhoとの相互作用を抑制または消失する因子、RhoとRho GDIとの相互作用を維持または強化する因子、RhoGDPからRhoGTPへの変換を阻害する因子、RhoとRhoキナーゼとの相互作用を阻害する因子、およびRhoキナーゼの活性を阻害する因子からなる群より選択される少なくとも1つの因子を再生に有効な量で提供することによって達成され得る。

【0772】

本発明の神経突起伸展の阻害を破壊または減少する方法において、神経の再生は、インビボまたはエキソビボで行われ得る。インビボで行われる場合は、体内で直接神経の治療または予防などが行われ得る。エキソビボで行われる場合は、神経集団を調製し、その集団を患者または被検体ことができる。

【0773】

1つの実施形態において、神経は、脊髄損傷、脳血管障害または脳外傷を含む状態にある。処置され得る神経疾患、障害または状態は、本明細書において列挙される任意の神経疾患、神経障害または異常状態であり得る。そのような疾患、障害または状態としては、例えば、大脳損傷、脊髄損傷、発作、脱髄疾患（例えば、多発性硬化症）、単語症脱髄、脳脊髄炎、多病巣性白質脳症、汎脳炎、マルキアファークニャーミ病、海綿状変性、アレグザンダー病、キャナヴァン病、異染性白質萎縮症およびクラッペ病が挙げられるがそれらに限定されない。

【0774】

別の実施形態において、神経突起伸展の阻害を破壊または減少する方法におけるp75シグナル伝達経路を阻害する工程は、再生に有効な量の、Pep5ポリペプチド、Pep5ポリペプチドをコードする核酸分子、p75ポリペプチドに対して特異的に相互作用する因子、p75ポリペプチドをコードする核酸分子に対して特異的に相互作用する因子、p75細胞外ドメインポリペプチド、p75細胞外ドメインポリペプチドをコードする核酸分子、Rho GDIポリペプチドに対して特異的に相互作用する因子、Rho GDIポリペプチドをコードする核酸分子に対して特異的に相互作用する因子、Rho GDIポリペプチド、Rho GDIポリペプチドをコードする核酸分子、MAGポリペプチドに対し

て特異的に相互作用する因子、MAGポリペプチドをコードする核酸分子に対して特異的に相互作用する因子、p21ポリペプチド、p21をコードする核酸分子、Rhοポリペプチドに対して特異的に相互作用する因子、Rhοポリペプチドをコードする核酸分子に対して特異的に相互作用する因子、Rhοキナーゼに対して特異的に相互作用する因子およびRhοキナーゼをコードする核酸分子に対して特異的に相互作用する因子ならびにその改変体およびフラグメントからなる群より選択される少なくとも1つの分子を含む組成物を、所望の神経に与える工程によって達成され得る。

【0775】

本発明の神経突起伸展の阻害を破壊または減少する方法において、神経再生を担う因子は、PTDドメインに結合して提供され得る。

【0776】

1つの実施形態において、本発明の神経突起伸展の阻害を破壊または減少する方法は、再生に有効な量の、Pep5ポリペプチド、Pep5ポリペプチドをコードする核酸分子、p75ポリペプチドに対して特異的に相互作用する因子、p75ポリペプチドをコードする核酸分子に対して特異的に相互作用する因子、p75細胞外ドメインポリペプチド、p75細胞外ドメインポリペプチドをコードする核酸分子、Rhο GDIポリペプチドに対して特異的に相互作用する因子、Rhο GDIポリペプチドをコードする核酸分子に対して特異的に相互作用する因子、Rhο GDIポリペプチド、Rhο GDIポリペプチドをコードする核酸分子、MAGポリペプチドに対して特異的に相互作用する因子、MAGポリペプチドをコードする核酸分子に対して特異的に相互作用する因子、p21ポリペプチド、p21をコードする核酸分子、Rhοポリペプチドに対して特異的に相互作用する因子、Rhοポリペプチドをコードする核酸分子に対して特異的に相互作用する因子、Rhοキナーゼに対して特異的に相互作用する因子およびRhοキナーゼをコードする核酸分子に対して特異的に相互作用する因子ならびにその改変体およびフラグメントからなる群より選択される少なくとも1つの分子を含む組成物を該神経に与える工程、を包含する。ここで、再生に有効な量は、当該分野において周知の技法を用いて当業者が種々のパラメータを参酌しな

がら決定することができ、そのような量を決定するためには、例えば、使用目的、対象疾患（種類、重篤度など）、患者の年齢、体重、性別、既往歴、細胞の形態または種類などを考慮して、当業者が容易に決定することができる（神経内科治療ガイド、小川紀雄著、中外医学社 1994を参照）。本発明では、神経の再生が、p 75シグナル伝達経路を遮断することによって（p 75シグナル伝達経路の関連因子）、神経突起伸展の阻害が破壊されることによることが明らかになった。このようなシグナル伝達経路の遮断による神経再生の効果は従来知られておらず、したがって、本発明は、従来技術より優れた効果を示す。

【0777】

1つの実施形態では、P e p 5ポリペプチド、P e p 5ポリペプチドをコードする核酸分子、p 75ポリペプチドに対して特異的に相互作用する因子、p 75ポリペプチドをコードする核酸分子に対して特異的に相互作用する因子、p 75細胞外ドメインポリペプチド、p 75細胞外ドメインポリペプチドをコードする核酸分子、R h o G D Iポリペプチドに対して特異的に相互作用する因子、R h o G D Iポリペプチドをコードする核酸分子に対して特異的に相互作用する因子、R h o G D Iポリペプチド、R h o G D Iポリペプチドをコードする核酸分子、M A Gポリペプチドに対して特異的に相互作用する因子、M A Gポリペプチドをコードする核酸分子に対して特異的に相互作用する因子、p 21ポリペプチド、p 21をコードする核酸分子、R h oポリペプチドに対して特異的に相互作用する因子、R h oポリペプチドをコードする核酸分子に対して特異的に相互作用する因子、R h oキナーゼに対して特異的に相互作用する因子およびR h oキナーゼをコードする核酸分子に対して特異的に相互作用する因子ならびにその改変体およびフラグメントは、本明細書において上記に記載されるような形態をとることができる。本発明では、神経の再生が、p 75シグナル伝達経路を遮断することによって、神経突起伸展の阻害が破壊されることによることが明らかになった。このようなシグナル伝達経路の遮断による神経再生の効果は従来知られておらず、したがって、本発明は、従来技術より優れた効果を示す。特に、P e p 5ポリペプチド、P e p 5ポリペプチドをコードする核酸分子、p 75ポリペプチドに対して特異的に相互作用する因子、p 75ポリペプチドをコードす

る核酸分子に対して特異的に相互作用する因子、p 75細胞外ドメインポリペプチド、p 75細胞外ドメインポリペプチドをコードする核酸分子、R h o G D I ポリペプチドに対して特異的に相互作用する因子、R h o G D I ポリペプチドをコードする核酸分子に対して特異的に相互作用する因子、R h o G D I ポリペプチド、R h o G D I ポリペプチドをコードする核酸分子、M A G ポリペプチドに対して特異的に相互作用する因子、M A G ポリペプチドをコードする核酸分子に対して特異的に相互作用する因子、p 21 ポリペプチド、p 21 をコードする核酸分子、R h o ポリペプチドに対して特異的に相互作用する因子、R h o ポリペプチドをコードする核酸分子に対して特異的に相互作用する因子、R h o キナーゼに対して特異的に相互作用する因子およびR h o キナーゼをコードする核酸分子に対して特異的に相互作用する因子ならびにその改変体およびフラグメントは、複数用いることが好ましくあり得る。そのような場合、種々の組み合わせが利用され得る。好ましくは、2つ、3つあるいは4つのポリペプチド、ポリヌクレオチドおよび／または因子を用いることができる。別の好ましい実施形態では、経路上の複数の分子が阻害されることが有利であり得る。

【0778】

別の局面において、神経突起伸展の阻害を破壊または減少するための組成物を提供する。この組成物は、再生に有効な量の p 75 シグナル伝達経路を阻害する因子を含む。このような組成物は、本明細書に記載されるように、当該分野において周知の技術を用いて処方することができる。

【0779】

1つの実施形態において、p 75 シグナル伝達経路を阻害する因子は、p 75 シグナル伝達経路における伝達因子もしくはその改変体もしくはフラグメント（好ましくは、このような改変体もしくはフラグメントはその伝達因子と同様の機能を有する）、または p 75 シグナル伝達経路における伝達因子に対して特異的に相互作用する因子であり得、この因子は、本発明の組成物において、再生に有効な量で含有される。

【0780】

別の実施形態において、p 75 シグナル伝達経路における伝達因子は、M A G

、G T 1 b、p 7 5、R h o G D I、R h o、p 2 1 および R h o キナーゼからなる群より選択される少なくとも 1 つの伝達因子を含むがそれに限定されない。

【0781】

別の実施形態において、p 7 5 シグナル伝達経路を阻害する因子は、M A G と G T 1 b との相互作用の阻害、G T 1 b と p 7 5 との相互作用の阻害、p 7 5 と R h o との相互作用の阻害、p 7 5 と R h o G D I との相互作用の阻害、R h o と R h o G D I との相互作用の維持または強化、R h o G D P から R h o G T P への変換阻害、R h o と R h o キナーゼとの相互作用の阻害および R h o キナーゼの活性阻害からなる群より選択される活性を有し得る。

【0782】

別の実施形態において、p 7 5 シグナル伝達経路を阻害する因子は、M A G と G T 1 b との相互作用を抑制または消失する因子、G T 1 b と p 7 5 との相互作用を抑制または消失する因子、p 7 5 と R h o G D I との相互作用を抑制または消失する因子、p 7 5 と R h o との相互作用を抑制または消失する因子、R h o と R h o G D I との相互作用を維持または強化する因子、R h o G D P から R h o G T P への変換を阻害する因子、R h o と R h o キナーゼとの相互作用を阻害する因子、および R h o キナーゼの活性を阻害する因子からなる群より選択される少なくとも 1 つの因子であり得る。このような因子は、再生に有効な量で含有され得る。

【0783】

別の実施形態において、p 7 5 シグナル伝達経路を阻害する因子は、神経突起伸展の阻害を破壊または減少するに有効な量の、P e p 5 ポリペプチド、P e p 5 ポリペプチドをコードする核酸分子、p 7 5 ポリペプチドに対して特異的に相互作用する因子、p 7 5 ポリペプチドをコードする核酸分子に対して特異的に相互作用する因子、p 7 5 細胞外ドメインポリペプチド、p 7 5 細胞外ドメインポリペプチドをコードする核酸分子、R h o G D I ポリペプチドに対して特異的に相互作用する因子、R h o G D I ポリペプチドをコードする核酸分子に対して特異的に相互作用する因子、R h o G D I ポリペプチド、R h o G D I ポ

リペプチドをコードする核酸分子、MAGポリペプチドに対して特異的に相互作用する因子、MAGポリペプチドをコードする核酸分子に対して特異的に相互作用する因子、p21ポリペプチド、p21をコードする核酸分子、Rhoポリペプチドに対して特異的に相互作用する因子、Rhoポリペプチドをコードする核酸分子に対して特異的に相互作用する因子、Rhoキナーゼに対して特異的に相互作用する因子およびRhoキナーゼをコードする核酸分子に対して特異的に相互作用する因子ならびにその改変体およびフラグメントからなる群より選択される少なくとも1つの分子を含む。ここで、神経突起伸展の阻害を破壊または減少するに有効な量は、当該分野において周知の技法を用いて当業者が種々のパラメータを参酌しながら決定することができ、そのような量を決定するためには、例えば、使用目的、対象疾患（種類、重篤度など）、患者の年齢、体重、性別、既往歴、細胞の形態または種類などを考慮して、当業者が容易に決定することができる。

【0784】

別の好ましい実施形態では、本発明はまた、Pep5ポリペプチド、Pep5ポリペプチドをコードする核酸分子、p75ポリペプチドに対して特異的に相互作用する因子、p75ポリペプチドをコードする核酸分子に対して特異的に相互作用する因子、p75細胞外ドメインポリペプチド、p75細胞外ドメインポリペプチドをコードする核酸分子、Rho GDIポリペプチドに対して特異的に相互作用する因子、Rho GDIポリペプチドをコードする核酸分子に対して特異的に相互作用する因子、Rho GDIポリペプチド、Rho GDIポリペプチドをコードする核酸分子、MAGポリペプチドに対して特異的に相互作用する因子、MAGポリペプチドをコードする核酸分子に対して特異的に相互作用する因子、p21ポリペプチド、p21をコードする核酸分子、Rhoポリペプチドに対して特異的に相互作用する因子、Rhoポリペプチドをコードする核酸分子に対して特異的に相互作用する因子、Rhoキナーゼに対して特異的に相互作用する因子およびRhoキナーゼをコードする核酸分子に対して特異的に相互作用する因子ならびにその改変体およびフラグメントを、複数含む、神経突起伸展の阻害を破壊または減少するための組成物を提供する。この場合、種々の組み

合わせが利用され得る。好ましくは、2つ、3つあるいは4つのポリペプチド、ポリヌクレオチドおよび／または因子を用いることができる。別の好ましい実施形態では、経路上の複数の分子を阻害する物質を使用することが有利であり得る。

【0785】

本発明の組成物において使用される因子は、PTDドメインを含んでいてもよい。

【0786】

本発明はまた、上述の組成物を備える、神経突起伸展の阻害を破壊または減少するためのキットにも関する。このようなキットは、本発明の組成物のほか、投与方法を記載した指示書を備え得る。このような指示書は、本明細書の他の場所において記載されている。

【0787】

本発明はまた、p75シグナル伝達経路を阻害する因子の、神経突起伸展の阻害を破壊または減少する医薬の製造のための使用に関する。

【0788】

(神経細胞のネットワーク構築)

本発明はまた、別の局面において、神経細胞のネットワークの構築のための組成物を提供する。この組成物および方法において、神経細胞におけるp75シグナル伝達経路を阻害する因子が包含されるか、または神経細胞におけるp75シグナル伝達経路を阻害する工程が包含される。

【0789】

ここで、神経細胞のネットワークの構築とは、複数の神経細胞の間で、有機的または情報が移転されるように細胞同士が連結されることをいう。そのようなネットワークを形成した神経細胞は、神経細胞集団ともいう。そのようなネットワークを形成した神経細胞としては、例えば、シナプス形成した神経細胞集団、脳、脊髄、末梢神経などが挙げられるがそれらに限定されない。

【0790】

1つの実施形態において、本発明の神経細胞のネットワークの構築のための組

成物および方法において、p 7 5 シグナル伝達経路の阻害は、p 7 5 シグナル伝達経路における伝達因子もしくはその改変体もしくはフラグメント、または p 7 5 シグナル伝達経路における伝達因子に対して特異的に相互作用する因子を再生に有効な量で前記神経細胞に提供することによって達成され得る。

【0791】

別の実施形態において、本発明の神経細胞のネットワークの構築のための組成物および方法において、p 7 5 シグナル伝達経路における伝達因子は、MAG、G T 1 b、p 7 5、R h o G D I、R h o、p 2 1 および R h o キナーゼからなる群より選択される少なくとも 1 つの伝達因子を含み得る。

【0792】

別の実施形態において、本発明の神経細胞のネットワークの構築のための組成物および方法において、p 7 5 シグナル伝達経路の阻害は、MAG と G T 1 b との相互作用の阻害、G T 1 b と p 7 5 との相互作用の阻害、p 7 5 と R h o との相互作用の阻害、p 7 5 と R h o G D I との相互作用の阻害、R h o と R h o G D I との相互作用の維持または強化、R h o G D P から R h o G T P への変換阻害、R h o と R h o キナーゼとの相互作用の阻害および R h o キナーゼの活性阻害からなる群より選択される相互作用の調節によってを包含する。

【0793】

この神経細胞のネットワークの構築のための組成物は、P e p 5 ポリペプチド、P e p 5 ポリペプチドをコードする核酸分子、p 7 5 ポリペプチドに対して特異的に相互作用する因子、p 7 5 ポリペプチドをコードする核酸分子に対して特異的に相互作用する因子、p 7 5 細胞外ドメインポリペプチド、p 7 5 細胞外ドメインポリペプチドをコードする核酸分子、R h o G D I ポリペプチドに対して特異的に相互作用する因子、R h o G D I ポリペプチドをコードする核酸分子に対して特異的に相互作用する因子、R h o G D I ポリペプチド、R h o G D I ポリペプチドをコードする核酸分子、MAG ポリペプチドに対して特異的に相互作用する因子、MAG ポリペプチドをコードする核酸分子に対して特異的に相互作用する因子、p 2 1 ポリペプチド、p 2 1 をコードする核酸分子、R h o ポリペプチドに対して特異的に相互作用する因子、R h o ポリペプチドをコー

ドする核酸分子に対して特異的に相互作用する因子、R h o キナーゼに対して特異的に相互作用する因子およびR h o キナーゼをコードする核酸分子に対して特異的に相互作用する因子ならびにその改変体およびフラグメントからなる群より選択される少なくとも1つの分子を含む。ここで、神経ネットワーク構築に有効な量は、当該分野において周知の技法を用いて当業者が種々のパラメータを参酌しながら決定することができ、そのような量を決定するためには、例えば、使用目的、対象疾患（種類、重篤度など）、患者の年齢、体重、性別、既往歴、細胞の形態または種類などを考慮して、当業者が容易に決定することができる。本発明では、神経の再生が、p 7 5 シグナル伝達経路を遮断することによって、神経突起伸展の阻害が破壊されることによることが明らかになった。このようなシグナル伝達経路の遮断による神経再生の効果は従来知られておらず、したがって、本発明は、従来技術より優れた効果を示す。

【0794】

このようにネットワーク形成された神経細胞（集団）は、神経障害を伴う生物に移植することができる。

【0795】

1つの実施形態では、P e p 5 ポリペプチド、P e p 5 ポリペプチドをコードする核酸分子、p 7 5 ポリペプチドに対して特異的に相互作用する因子、p 7 5 ポリペプチドをコードする核酸分子に対して特異的に相互作用する因子、p 7 5 細胞外ドメインポリペプチド、p 7 5 細胞外ドメインポリペプチドをコードする核酸分子、R h o G D I ポリペプチドに対して特異的に相互作用する因子、R h o G D I ポリペプチドをコードする核酸分子に対して特異的に相互作用する因子、R h o G D I ポリペプチド、R h o G D I ポリペプチドをコードする核酸分子、M A G ポリペプチドに対して特異的に相互作用する因子、M A G ポリペプチドをコードする核酸分子に対して特異的に相互作用する因子、p 2 1 ポリペプチド、p 2 1 をコードする核酸分子、R h o ポリペプチドに対して特異的に相互作用する因子、R h o ポリペプチドをコードする核酸分子に対して特異的に相互作用する因子、R h o キナーゼに対して特異的に相互作用する因子およびR h o キナーゼをコードする核酸分子に対して特異的に相互作用する因子ならびに

その改変体およびフラグメントは、本明細書において上記に記載されるような形態をとることができる。本発明では、神経の再生が、p 75 シグナル伝達経路を遮断することによって、神経突起伸展の阻害が破壊されることによることが明らかになった。このようなシグナル伝達経路の遮断による神経再生およびネットワーク形成の効果は従来知られておらず、したがって、本発明は、従来技術より優れた効果を示す。特に、P e p 5 ポリペプチド、P e p 5 ポリペプチドをコードする核酸分子、p 75 ポリペプチドに対して特異的に相互作用する因子、p 75 ポリペプチドをコードする核酸分子に対して特異的に相互作用する因子、p 75 細胞外ドメインポリペプチド、p 75 細胞外ドメインポリペプチドをコードする核酸分子、R h o G D I ポリペプチドに対して特異的に相互作用する因子、R h o G D I ポリペプチドをコードする核酸分子に対して特異的に相互作用する因子、R h o G D I ポリペプチド、R h o G D I ポリペプチドをコードする核酸分子、M A G ポリペプチドに対して特異的に相互作用する因子、M A G ポリペプチドをコードする核酸分子に対して特異的に相互作用する因子、p 21 ポリペプチド、p 21 をコードする核酸分子、R h o ポリペプチドに対して特異的に相互作用する因子、R h o ポリペプチドをコードする核酸分子に対して特異的に相互作用する因子、R h o キナーゼに対して特異的に相互作用する因子および R h o キナーゼをコードする核酸分子に対して特異的に相互作用する因子ならびにその改変体およびフラグメントは、複数用いることが好ましくあり得る。そのような場合、種々の組み合わせが利用され得る。好ましくは、2つ、3つあるいは4つのポリペプチド、ポリヌクレオチドおよび／または因子を用いることができる。別の好ましい実施形態では、経路上の複数の分子が阻害されることが有利であり得る。

【0796】

別の局面において、本発明は、神経細胞のネットワークの構築のための方法を提供する。この方法は、ネットワークの構築に有効な量の P e p 5 ポリペプチド、P e p 5 ポリペプチドをコードする核酸分子、p 75 ポリペプチドに対して特異的に相互作用する因子、p 75 ポリペプチドをコードする核酸分子に対して特異的に相互作用する因子、p 75 細胞外ドメインポリペプチド、p 75 細胞外ド

メインポリペプチドをコードする核酸分子、R h o G D I ポリペプチドに対して特異的に相互作用する因子、R h o G D I ポリペプチドをコードする核酸分子に対して特異的に相互作用する因子、R h o G D I ポリペプチド、R h o G D I ポリペプチドをコードする核酸分子、M A G ポリペプチドに対して特異的に相互作用する因子、M A G ポリペプチドをコードする核酸分子に対して特異的に相互作用する因子、p 2 1 ポリペプチド、p 2 1 をコードする核酸分子、R h o ポリペプチドに対して特異的に相互作用する因子、R h o ポリペプチドをコードする核酸分子に対して特異的に相互作用する因子、R h o キナーゼに対して特異的に相互作用する因子および R h o キナーゼをコードする核酸分子に対して特異的に相互作用する因子ならびにその改変体およびフラグメントからなる群より選択される少なくとも 1 つの分子を含む組成物を該神経細胞に与える工程、を包含する。

【0797】

(神経疾患処置キット)

別の局面において、本発明は、神経学的疾患を処置するためのキットを提供する。このキットは、(A) P e p 5 ポリペプチド、P e p 5 ポリペプチドをコードする核酸分子、p 7 5 ポリペプチドに対して特異的に相互作用する因子、p 7 5 ポリペプチドをコードする核酸分子に対して特異的に相互作用する因子、p 7 5 細胞外ドメインポリペプチド、p 7 5 細胞外ドメインポリペプチドをコードする核酸分子、R h o G D I ポリペプチドに対して特異的に相互作用する因子、R h o G D I ポリペプチドをコードする核酸分子に対して特異的に相互作用する因子、R h o G D I ポリペプチド、R h o G D I ポリペプチドをコードする核酸分子、M A G ポリペプチドに対して特異的に相互作用する因子、M A G ポリペプチドをコードする核酸分子に対して特異的に相互作用する因子、p 2 1 ポリペプチド、p 2 1 をコードする核酸分子、R h o ポリペプチドに対して特異的に相互作用する因子、R h o ポリペプチドをコードする核酸分子に対して特異的に相互作用する因子、R h o キナーゼに対して特異的に相互作用する因子および R h o キナーゼをコードする核酸分子に対して特異的に相互作用する因子ならびにその改変体およびフラグメントからなる群より選択される少なくとも 1 つの分

子を含む組成物によって再生された細胞集団、(B) 該細胞集団を保存するための容器を包含する。

【0798】

あるいは、このようなキットは、(A) P e p 5 ポリペプチド、P e p 5 ポリペプチドをコードする核酸分子、p 7 5 ポリペプチドに対して特異的に相互作用する因子、p 7 5 ポリペプチドをコードする核酸分子に対して特異的に相互作用する因子、p 7 5 細胞外ドメインポリペプチド、p 7 5 細胞外ドメインポリペプチドをコードする核酸分子、R h o G D I ポリペプチドに対して特異的に相互作用する因子、R h o G D I ポリペプチドをコードする核酸分子に対して特異的に相互作用する因子、R h o G D I ポリペプチド、R h o G D I ポリペプチドをコードする核酸分子、M A G ポリペプチドに対して特異的に相互作用する因子、M A G ポリペプチドをコードする核酸分子に対して特異的に相互作用する因子、p 2 1 ポリペプチド、p 2 1 をコードする核酸分子、R h o ポリペプチドに対して特異的に相互作用する因子、R h o ポリペプチドをコードする核酸分子に対して特異的に相互作用する因子、R h o キナーゼに対して特異的に相互作用する因子および R h o キナーゼをコードする核酸分子に対して特異的に相互作用する因子ならびにその改変体およびフラグメントからなる群より選択される少なくとも 1 つの分子を含む組成物；(B) 神経細胞または神経細胞に分化することができる細胞、(C) 該細胞集団を保存するための容器を包含する。

【0799】

上記キットは、神経細胞または神経細胞集団を必要とする疾患（神経疾患、神経障害、神経の異常状態など）の処置に有効である。形成された神経細胞および神経細胞集団は、どのような状態であってもよいが、分化状態が適合していることが好ましい。

【0800】

本発明のキットにおいて提供される指示書は、指示を伝えることができる限り、どのような形態をとってもよく、紙、コンピュータ読み取り可能な記録媒体（例えば、フレキシブルディスク、CD-R）、電子メール、ウェブサイトなどであり得る。

【0801】

別の局面において、神経学的疾患を処置するための方法を提供する。この方法は、(a) P e p 5 ポリペプチド、P e p 5 ポリペプチドをコードする核酸分子、p 7 5 ポリペプチドに対して特異的に相互作用する因子、p 7 5 ポリペプチドをコードする核酸分子に対して特異的に相互作用する因子、p 7 5 細胞外ドメインポリペプチド、p 7 5 細胞外ドメインポリペプチドをコードする核酸分子、R h o G D I ポリペプチドに対して特異的に相互作用する因子、R h o G D I ポリペプチドをコードする核酸分子に対して特異的に相互作用する因子、R h o G D I ポリペプチド、R h o G D I ポリペプチドをコードする核酸分子、M A G ポリペプチドに対して特異的に相互作用する因子、M A G ポリペプチドをコードする核酸分子に対して特異的に相互作用する因子、p 2 1 ポリペプチド、p 2 1 をコードする核酸分子、R h o ポリペプチドに対して特異的に相互作用する因子、R h o ポリペプチドをコードする核酸分子に対して特異的に相互作用する因子、R h o キナーゼに対して特異的に相互作用する因子および R h o キナーゼをコードする核酸分子に対して特異的に相互作用する因子ならびにその改変体およびフラグメントからなる群より選択される少なくとも 1 つの分子を含む組成物によって再生された細胞集団を提供する工程；および (b) 該細胞集団を該患者に移植する工程、を包含する。

【0802】

このような細胞集団はまた、移植片とも呼ばれる。本明細書において「移植片」...」とは、通常、身体の特定部位に挿入されるべき同種または異種の組織または細胞群であって、身体への挿入後その一部となる。従来の移植片としては、例えば、臓器または臓器の一部、血管、血管様組織、皮片、心臓弁、心膜、硬膜、角膜骨片、歯などが使用されてきた。従って、移植片には、ある部分の欠損部に差し込んで欠損を補うために用いられるものすべてが包含される。移植片としては、そのドナー (d o n o r) の種類によって、自己 (自家) 移植片 (a u t o g r a f t)、同種移植片 (同種異系移植片) (a l l o g r a f t)、異種移植片が挙げられるがそれらに限定されない。本明細書において「免疫反応」とは、移植片と宿主との間の免疫寛容の失調による反応をいい、例えば、超急性拒絶反

応（移植後数分以内）（ β -Galなどの抗体による免疫反応）、急性拒絶反応（移植後約7～21日の細胞性免疫による反応）、慢性拒絶反応（3カ月以降の細胞性免疫による拒絶反応）などが挙げられる。本明細書において免疫反応を惹起するかどうかは、HE染色などを含む染色、免疫染色、組織切片の検鏡によって、移植組織中への細胞（免疫系）浸潤について、その種、数などの病理組織学的検討を行うことにより判定することができる。

【0803】

細胞集団の提供は、本明細書において他の場所において詳述されている。細胞を患者に移植する技術もまた、当該分野において周知の技術を用いることができる。そのような方法は、標準外科学（医学書院）、新外科学大系（中山書店）などに記載されている。本発明の移植片の移植に際しては、上述の一般的な方法において、過大な圧がかからないということに留意することが好ましくあり得る。

【0804】

本発明の移植片または細胞集団は、その中にかまたはそれに伴って、免疫抑制剤をさらに含んでいてもよい。そのような免疫抑制剤は、当該分野において公知である。免疫抑制の目的では、免疫抑制剤のほか、免疫抑制を達成する別の方法を用いてもよい。上述のような拒絶反応を起こさないようにする免疫抑制法として、免疫抑制剤によるもの、外科的手術、放射線照射等が挙げられる。まず、免疫抑制剤として主なものとして副腎皮質ステロイド薬、シクロスポリン、FK506等がある。副腎皮質ステロイド薬は循環性T細胞の数を減少させ、リンパ球の核酸代謝、サイトカイン産生を阻害してその機能を抑え、マクロファージの遊走および代謝を抑制して免疫反応を抑える。一方、シクロスポリンおよびFK506の作用は類似しており、ヘルパーT細胞の表面にある受容体と結合して細胞内に入り込み、DNAに直接働いてインターロイキン2の生成を阻害する。最終的には、キラーT細胞が機能できなくなり免疫抑制作用が起こる。これらの免疫抑制剤の使用においては副作用が問題となる。ステロイドは特に副作用が多く、また、シクロスポリンは肝臓・腎臓に対する毒性がある。また、FK506は腎臓に対する毒性を有する。次に外科的手術としては、例えば、リンパ節摘出、脾

臓摘出、胸腺摘除が挙げられるが、これらについてはその効果が十分に証明されてはいない。外科的手術の中でも胸管ろうとは、循環しているリンパ球を体外に導くものであり効果も確認されているが、大量の血清タンパク質および脂肪の流出を引き起こし、栄養障害が起こりやすくなるという欠点がある。放射線照射には全身照射と移植片照射があるが、効果が不確実な面もあり、レシピエントに対する負担が大きいので、前述の免疫抑制剤との併用により利用されている。上述のいずれの方法も拒絶反応の防止にはあまり好ましくない。

【0805】

(スクリーニング)

本発明はまた、神経再生を誘導する因子を同定するためのスクリーニング方法を提供する。この方法では、P e p 5 ポリペプチド、P e p 5 ポリペプチドをコードする核酸分子、p 7 5 ポリペプチドに対して特異的に相互作用する因子、p 7 5 ポリペプチドをコードする核酸分子に対して特異的に相互作用する因子、p 7 5 細胞外ドメインポリペプチド、p 7 5 細胞外ドメインポリペプチドをコードする核酸分子、R h o G D I ポリペプチドに対して特異的に相互作用する因子、R h o G D I ポリペプチドをコードする核酸分子に対して特異的に相互作用する因子、R h o G D I ポリペプチド、R h o G D I ポリペプチドをコードする核酸分子、M A G ポリペプチドに対して特異的に相互作用する因子、M A G ポリペプチドをコードする核酸分子に対して特異的に相互作用する因子、p 2 1 ポリペプチド、p 2 1 をコードする核酸分子、R h o ポリペプチドに対して特異的に相互作用する因子、R h o ポリペプチドをコードする核酸分子に対して特異的に相互作用する因子、R h o キナーゼに対して特異的に相互作用する因子およびR h o キナーゼをコードする核酸分子に対して特異的に相互作用する因子ならびにその改変体およびフラグメントからなる群より選択される少なくとも1つの分子とそれらに相互作用する分子との相互作用に、試験因子が有意に影響を与える（減少、増強、消失など）かどうかを判定することによって同定することができる。

【0806】

1つの実施形態において、この方法は、(a) 配列番号4に少なくとも70%

相同性であるアミノ酸配列を有する第1のポリペプチドまたはそのフラグメントおよび配列番号6に少なくとも70%相同性であるアミノ酸配列を有する第2のポリペプチドまたはそのフラグメントを、試験因子の存在下で接触させる工程、および(b)該第1のポリペプチドと該第2のポリペプチドとの間の結合レベルを、該試験因子の非存在下における結合レベルと比較する工程、を包含し、ここで、該試験因子の非存在下と比較して、試験因子の存在下において結合が減少した場合、該試験因子は、神経を再生するための因子として同定される。

【0807】

このような試験因子の判定方法は、当該分野において周知であり、任意の統計学的手法を用いて結果を算出することができる。

【0808】

本発明の同定方法において、被検体・患者の提示、選択は任意に行うことができるが、被検体がヒトである場合、コンセンツを事前にもらっておくことが好ましい。被検体としては、神経状態が正常ではないものを提供することができる限りどのようなものでも選択することができる。

【0809】

本発明の同定方法において、次に、本発明の同定方法で用いられる投与工程は、どのような技術を用いてもよい。好ましくは、経口投与、静脈注射など、通常の治療において使用される形態であることが有利である。

【0810】

このようなスクリーニングまたは同定の方法は、当該分野において周知であり、例えば、そのようなスクリーニングまたは同定は、マイクロタイタープレート、DNAまたはプロテインなどの生体分子アレイまたはチップを用いて行うことができる。スクリーニングの試験因子を含む対象としては、例えば、遺伝子のライブラリー、コンビナトリアルライブラリーで合成した化合物ライブラリーなどが挙げられるがそれらに限定されない。

【0811】

したがって、本発明では、本発明の開示をもとに、コンピュータモデリングによる薬物が提供されることも企図される。

【0812】

本発明は、他の実施形態において、本発明の化合物に対する調節活性についての有効性のスクリーニングの道具として、コンピュータによる定量的構造活性相関 (quantitative structure activity relationship=QSAR) モデル化技術を使用して得られる化合物を包含する。ここで、コンピュータ技術は、いくつかのコンピュータによって作成した基質鑄型、ファーマコフォア、ならびに本発明の活性部位の相同モデルの作製などを包含する。一般に、インビトロで得られたデータから、ある物質に対する相互作用物質の通常の特徴基をモデル化するは、CATALYSTTM ファーマコフォア法 (Ekins et al., Pharmacogenetics, 9:477~489, 1999; Ekins et al., J. Pharmacol. & Exp. Ther., 288:21~29, 1999; Ekins et al., J. Pharmacol. & Exp. Ther., 290:429~438, 1999; Ekins et al., J. Pharmacol. & Exp. Ther., 291:424~433, 1999) および比較分子電界分析 (comparative molecular field analysis; CoMFA) (Jones et al., Drug Metabolism & Disposition, 24:1~6, 1996) などを使用して示されている。本発明において、コンピュータモデリングは、分子モデル化ソフトウェア (例えば、CATALYSTTMバージョン4 (Molecular Simulations, Inc., San Diego, CA) など) を使用して行われ得る。

【0813】

活性部位に対する化合物のフィッティングは、当該分野で公知の種々のコンピュータモデリング技術のいずれかを使用してで行うことができる。視覚による検査および活性部位に対する化合物のマニュアルによる操作は、QUANTA (Molecular Simulations, Burlington, MA, 1992)、SYBYL (Molecular Modeling Software, Tripos Associates, Inc., St. Louis, M

O, 1992)、AMBER (Weiner et al., J. Am. Chem. Soc., 106:765~784, 1984)、CHARMM (Brooks et al., J. Comp. Chem., 4:187~217, 1983) などのようなプログラムを使用することができる。これに加え、CHARMM、AMBERなどのような標準的な力場を使用してエネルギーの最小化を行うこともできる。他のさらに特殊化されたコンピュータモデリングは、GRID (Goodford et al., J. Med. Chem., 28:849~857, 1985)、MCSS (Miranker and Karplus, Function and Genetics, 11:29~34, 1991)、AUTODOCK (Goodsell and Olsen, Proteins: Structure, Function and Genetics, 8:195~202, 1990)、DOCK (Kuntz et al., J. Mol. Biol., 161:269~288, (1982)) などを含む。さらなる構造の化合物は、空白の活性部位、既知の低分子化合物における活性部位などに、LUDI (Bohm, J. Comp. Aid. Molec. Design, 6:61~78, 1992)、LEGEND (Nishibata and Itai, Tetrahedron, 47:8985, 1991)、Leap Frog (Tripos Associates, St. Louis, MO) などのようなコンピュータプログラムを使用して新規に構築することもできる。このようなモデリングは、当該分野において周知慣用されており、当業者は、本明細書の開示に従って、適宜本発明の範囲に入る化合物を設計することができる。

【0814】

別の局面において、本発明は、本発明の上記同定方法によって同定される、調節因子を提供する。

【0815】

別の局面において、本発明は、本発明の調節因子を含む、薬学的組成物を提供する。

【0816】

別の局面において、本発明は、神経学的疾患、障害または状態を、予防または処置する方法を提供する。ここで、この方法は、本発明の調節因子を含む薬学的組成物を被験体に投与する工程を包含する。好ましくは、この神経に関連する状態、障害または疾患は、同定方法において有効であると判断された異常、障害または疾患であり、好ましくはアルツハイマー病を包含するがそれに限定されない。

【0817】

神経に関連する疾患、障害および状態は、その治療について根本的な治療が困難といわれてきた。しかし、本発明の上述のような効果によって、従来では不可能とされていた早期診断が可能となり、治療にも応用することができることが明らかとなった。したがって、本発明は、従来の診断薬でも医薬でも達成不可能であった有用性を有するといえる。

【0818】

(トランスジェニック動物)

別の局面において、本発明はまた、P e p 5 ポリペプチドをコードする核酸分子、p 7 5 ポリペプチドをコードする核酸分子およびR h o G D I ポリペプチドをコードする核酸分子からなる群より選択される少なくとも1つの核酸分子の配列において野生型とは異なる配列が導入された配列を有する核酸分子を含む、ベクターを提供する。このベクターは、種々の目的で用いることができ、例えば、トランスジェニック動物の生産、改変ポリペプチドの産生などが挙げられるがそれらに限定されない。

【0819】

したがって、本発明は、このようなベクターを含む、細胞、組織、臓器、生物を提供する。また、本発明はまた、このようなベクターで形質転換された神経改変トランスジェニック動物を提供する。動物を作製する方法は、東亜異分野において公知である。

【0820】

別の局面において、本発明は、本発明の遺伝子がノックアウトされたノックアウト動物を提供する。

【0821】

本明細書において、「ノックアウト」とは、遺伝子について言及されるとき、その遺伝子を破壊（欠損）または機能不全にさせることをいう。

【0822】

本明細書において、「ノックアウト動物」とは、ある遺伝子がノックアウトされた動物（例えば、マウス）をいう。

【0823】

本明細書において、「動物」は、ノックアウトすることができるものであればどのような動物であってもよい。従って、動物には、脊椎動物および無脊椎動物が包含される。動物としては、哺乳動物（例えば、マウス、イヌ、ネコ、ラット、サル、ブタ、ウシ、ヒツジ、ウサギ、イルカ、クジラ、ヤギ、ウマなど）、鳥類（例えば、ニワトリ、ウズラなど）、両生類（例えば、カエルなど）、爬虫類、昆虫（例えば、ショウジョウバエなど）などが挙げられる。好ましくは、動物は、哺乳動物であり得、より好ましくは、ノックアウトを作製することが容易な動物（例えば、マウス）であり得る。別の好ましい形態では、動物は、ヒトのモデル動物として適切であることが判明している動物（例えば、サル）であり得る。ある実施形態では、動物は、非ヒト動物であり得るが、それに限定されない。

【0824】

本発明はまた、本発明の因子（例えば、ポリペプチドなど）の、本発明の目的（例えば、神経疾患、障害、異常状態の治療、診断、予防、処置、予後など）のための使用または医薬組成物の製造のための本発明の因子の使用に関する。それらの詳細な実施形態は上述したものと同様であり、当業者は適宜応用することができる。

【0825】

以下に、実施例に基づいて本発明を説明するが、以下の実施例は、例示の目的のみに提供される。従って、本発明の範囲は、実施例のみに限定されるものではなく、特許請求の範囲によってのみ限定される。

【0826】

【実施例】

以下に実施例を示して本発明をさらに詳しく説明するが、この発明は以下の例に限定されるものではない。動物の取り扱い、大阪大学において規定される基準を遵守した。

【0827】

(実施例 1 : p 75 NTR は、ミエリン結合タンパク質から R h o にシグナルを伝達する)

(材料および方法)

(動物)

p 75 NTR 遺伝子の第 3 エキソンの破壊が標的化されたマウス系統 (L e e , K. F. ら、C e l l 69 : 737-749、1992) を使用した。このマウスは、C57BL/6J バックグラウンドで、最初は J a c k s o n I m m u n o R e s e a r c h L a b o r a t o r i e s から入手した。

【0828】

(神経突起伸展アッセイ)

DRG を、成体マウスから取り出し、そして 0.025% トリプシンおよび 0.15% 1 型コラゲナーゼ (S i g m a A l d r i c h) を用いた 37℃ で 30 分間のインキュベーションによって、単一細胞に分離させた。小脳ニューロンについて、2 匹の動物由来の小脳を、5 ml の 0.025% トリプシン中で合わせ、粉碎し、そして 37℃ で 10 分間インキュベートした。10% FCS を含む DMEM を添加し、細胞を 800 rpm にて遠心分離した。ニューロンを、ポリ-L-リジンでコーティングしたチャンバスライド上の S a t o 培地 (C a i , D. , Y. S h e n , M. D e B e l l a r d , S. T a n g , および M. T. F i l b i n . 1999, , N e u r o n 22 : 89-101) 中、プレートに播いた。伸展アッセイについて、プレートに播いた細胞を、24 時間インキュベートし、そして 4% (重量/容積) パラホルムアルデヒド中で固定し、そしてニューロン特異的 β チューブリン III タンパク質を認識するモノクローナル抗体 (T u J 1) を用いて免疫染色した。次いで、各 β チューブリン III 陽性ニューロンの最も長い神経突起の長さまたは総突起物の伸展を、決定した。示される場合、細胞をプレートに播いた後、組換えラット MAG-Fc キ

メラ (R & D Systems) を、培地に添加した。組換えC3トランスフェラーゼを、以前に記載されたように (Borasio, G. D., J. John, A. Wittinghofer, Y. A. Barde, M. Sendtner, および R. Heumann. 1989., Neuron 2:1087-1096) 粉碎によって、プレートに播く前にニューロンの細胞質に導入した。

【0829】

(GTP-RhoAのアフィニティー免疫沈降)

293細胞を、NH₂末端をHAタグ化した野生型RhoA (Yamashita, T. ら, Neuron 24:585-593, 1999) および/または全長ヒトp75^{NTR}を含むpcDNA3ベクターを用いて、Lipofectamine 2000 (GIBCO BRL) を用いたリポフェクションによってトランスフェクトした。P9マウス由来の小脳ニューロンを、以前に記載されたように (Cai, D. ら, Neuron 22:89-101, 1999) 単離した。細胞を、50mM Tris (pH7.5)、1% Triton X-100、0.5% デオキシコール酸ナトリウム、0.1% SDS、500mM NaCl、および10mM MgCl₂、ならびに10μg/ml ロイペプチンおよび10μg/ml アプロチニン中に溶解した。細胞溶解物を、13,000g、4℃で10分間の遠心分離によって清澄化し、そして上清を、Rhotekinビーズ (Upstate Biotechnology) のGST-Rho結合ドメインの20μgと共に4℃で45分間インキュベートした。このビーズを、洗浄緩衝液 (1% Triton X-100、150mM NaCl、10mM MgCl₂、10μg/ml ロイペプチンおよび10μg/ml アプロチニンを含む50mM Tris (pH7.5)) を用いて4回洗浄した。結合したRhoタンパク質を、RhoAに対するモノクローナル抗体 (Santa Cruz Biotechnology) を用いてウエスタンブロッティングによって検出した。

【0830】

(MAG-Fc結合および免疫細胞化学)

DRGニューロン培養物を、PBS中の1%パラホルムアルデヒド中、30分

間固定した。次いで、これらの培養物を、2% FCSを含むPBSを用いてブロックした。MAG結合分子を局在化させるために、固定しかつブロックしたDRGニューロンに添加する前に、MAG-Fc ($5\mu\text{g}/\text{ml}$) および抗ヒトIgG ($1\mu\text{g}/\text{ml}$) を、室温にて30分間予備的に複合体化した (Turnley, A. M. および P. F. Bartlett, Int. J. Dev. Neurosci. 17:109-119, 1999)。p75^{NTR}を同定するために、細胞を、0.2% Triton X-100/PBSを用いて透過化処理し、次いで、p75^{NTR}に対するポリクローナル抗体 (Promega) と共に一晩インキュベートし、次いで、Alexa fluorTM 568 標識抗ウサギIgG (Molecular Probes) と1時間インキュベートした。抗体の特異性を、このタンパク質を発現する細胞のウエスタンブロット分析によって評価し、免疫細胞化学のコントロール実験を、一次抗体を外すことによって実行した。

【0831】

(組換え p75^{NTR} と GT1b との同時免疫沈降)

組換えヒト p75^{NTR}-Fc キメラ ($1\mu\text{g}$; Genzyme-Techne) および $1\mu\text{g}$ の精製ガングリオシド GT1b (98% より高い純度; Seikagaku Co.) を、 $200\mu\text{l}$ 0.025% Tween 20/PBS 中で2時間インキュベートし、そして p75^{NTR} をプロテインAセファロース (Amersham Pharmacia Biotech) を用いて沈降した。生じる沈降物を、7%ゲルを用いたSDS-PAGEの後、二フッ化ポリビニリデンメンブランに電氣的に転写し、そして抗GT1b抗体 (IgM; Seikagaku Co.) または抗p75^{NTR}抗体を用いて免疫プロットした。

【0832】

(同時免疫沈降実験)

細胞を、溶解緩衝液 (10mM Tris-HCl (pH 7.5)、 150mM NaCl、1% Triton X-100、 $25\mu\text{g}/\text{ml}$ ロイペプチン、および $25\mu\text{g}/\text{ml}$ アプロチニン) を用いて20分間氷上で溶解した。

溶解物を、13,000 gで20分間遠心分離し、そして上清を、収集した。次いで、これらの上清を、抗GT1b抗体または抗HA抗体（トランスフェクトしたHA-p75NTRについて）と共に1晩インキュベートし、次いで、抗マウスIgM抗体（GT1bについて）と共にインキュベートした。免疫複合体またはMAG-Fcを、プロテインAセファロース（Amersham Pharmacia Biotech）を用いて収集した。懸濁液を参照のこと、1,000 gで5分間遠心分離した。ペレットを、溶解緩衝液を用いて4回洗浄し、SDS-PAGE、次いで免疫ブロット分析に供した。

【0833】

（実施例1-1：神経突起伸展の阻害は、p75NTRに依存する）

本発明者らはまず、p75NTRがニューロン上でMAGの効果と関連するかどうかを調べた。p75NTR遺伝子に変異を保有するマウス（Lee, K. F. ら、Cell 69:737-749, 1992）および野生型マウス由来の成体DRGニューロンの神経突起伸展を調べた。

【0834】

ヒトIgGのFc領域に融合したMAGの細胞外ドメインからなるMAGの可溶性キメラ形態（MAG-Fc）を使用した。可溶性MAG（ミエリンから豊富に放出され、インビボで見出される）およびMAG-Fcが軸索成長を強力に阻害し得ることが示されている（Tang, S. ら、J. Cell Biol. 138:1355-1366, 1997a; Tang, S. ら、Mol. Cell Neurosci. 9:333-346, 1997b）。本発明者らは、MAG処理ニューロンとMAG未処理ニューロンとの間で神経突起の長さを比較した。25 μ g/mlの濃度のMAG-Fcは、成体野生型マウスからのDRGニューロンの神経突起伸展を阻害した（図1、AおよびB）。Fcは、ニューロンに何の影響も与えなかった。興味深いことに、MAGの阻害効果は、p75NTR遺伝子に変異を保有する成体マウス由来のDRGニューロン中で観察され得なかった。測定したものが総突起の伸展であっても最も長い神経突起の長さであっても、まさに同じ結果が得られた。

【0835】

生後小脳ニューロンを用いた類似の実験を実行した。 $25\mu\text{g}/\text{ml}$ の濃度のMAG-Fcにおいて、神経突起成長は、P9野生型マウス由来の小脳ニューロンを使用した場合、有意に阻害された(図1C)。さらに、MAGによる阻害は、p75^{NTR}遺伝子に変異を保有するP9マウス由来のニューロン中では観察されなかった。これらの結果は、MAGが、p75^{NTR}依存性機構によって神経突起伸展を阻害することを示唆する。

【0836】

p75^{NTR}は、インビボおよびインビトロにおいて軸索成長の阻害に必要であることが示され、末梢ニューロンの神経支配を標的化し(Kimpinski, K. ら, *Neuroscience* 93:253-263, 1999; Kohn, J. ら, *J. Neurosci.* 19:5393-5408, 1999)、そしてインビボにおいてコリン作動性ニューロンの過剰神経支配の抑制に必要であること(Yeo, T. T. ら, *J. Neurosci.* 17:7594-7605, 1997)が示された。近年、小脳の有髄部分内の交感神経系軸索の成長が、インビボにおいて、p75^{NTR}を発現するマウスと比較して、p75^{NTR}の発現を欠くNGFトランスジェニックマウス中で大きいことが報告された(Walsh, G. S. ら, *J. Neurosci.* 19:4155-4168, 1999)。これは、本発明者らのデータを支持する関連する知見であり得る。なぜなら、p75^{NTR}遺伝子に変異を保有するニューロンは、阻害因子に無反応性であることが示唆されるからである。

【0837】

(実施例1-2:ニューロン上でのMAGのシグナル伝達機構)

いくつかのニューロンは、RhoAが不活性化の場合に急速に神経突起を伸展し、そして神経突起収縮は、RhoAが活性化の場合に生じる(Davies, A. M., *Curr. Biol.* 10:R198-R200, 2000)。以前の研究によって、RhoAの不活性化が、インビボにおいて軸索再生を促進したことが示された(Lehmann, M. ら, *J. Neurosci.* 19:7537-7547, 1999)。従って、RhoAの活性化が、本発明者らの系のMAGによる神経突起伸展の調節に必要であるか否かを調べた。

【0838】

R h o Aの活性化が、M A Gによる神経突起伸展の調節に必要であるか否かを調べるために、本発明者らは、A D PをR h o Aにリボシル化するC l o s t r i d i u m b o t u l i n u m由来の外毒素C 3トランスフェラーゼを使用した。組み換えC 3トランスフェラーゼを、粉碎によってD R Gニューロンの細胞質に導入した。C 3トランスフェラーゼは、野生型マウス由来のD R Gニューロンに対するM A Gの効果を完全に破壊した（図2 A）。これらのデータは、以前の報告と一致し、R h o AがM A Gシグナル伝達経路上にあることを示唆する（L e h m a n n, M. ら, J. N e u r o s c i. 19: 7537-7547, 1999）。

【0839】

試験した次の仮説は、M A Gがp 75 N T R依存性機構によってR h o Aの活性を調節するか否かという仮説である。内因性にp 75 N T Rを発現しない293細胞を使用し、M A G-F cの細胞表面への結合は、分散して観察された（図2 B）。エフェクタータンパク質であるR h o t e k i n（R e n, X. D. ら, E M B O J. 18: 578-585, 1999）のR h o A結合ドメインを使用して、G T P結合形態のR h o Aを、アフィニティー沈降し得た。細胞中のR h o A活性の直接的な測定を、この方法を用いて実行し得た。このアッセイによって、可溶性M A G（25 μ g/ml）の添加後30分以内に、p 75 N T RおよびR h o Aをトランスフェクトした293細胞の抽出物は、コントロールと比較して、劇的に増加した量のG T P-R h o Aを含み（図2 C）、一方、F cの添加によって活性の変化は観察されなかったことが明らかとなった。しかし、M A G-F cの添加によるG T P-R h o A含量における増加は、p 75 N T Rをトランスフェクトしていない細胞において観察されなかった（図2 C）。

【0840】

タンパク質が人工的に発現される場合のR h o A活性の調節を、天然の細胞中で検出することは困難であり得る。従って、R h o A活性が内因性p 75 N T Rを発現する細胞中でM A Gによって調節されるか否かを確認するために、生後小脳顆粒ニューロンを使用した。なぜなら、これらのニューロンもまた、神経突起

伸展に関してMAGに感受性であるからである。トランスフェクトされた293細胞中での観察と一致して、MAG-Fcは、野生型マウス(P9)由来の小脳顆粒ニューロン(これは、p75^{NTR}を豊富に発現する)中でRhoAを活性化(図3A)。この急速な活性化は、ニューロンに対するNGFの効果(これもまた、p75^{NTR}によって媒介される)と対照的であった(図3B)。なぜなら、これらのニューロンは、NGF受容体であるtrkAを発現しないことから、NGFの効果は、p75^{NTR}によって媒介されるからである。RhoA活性(図3C)および神経突起伸展に対するMAGの効果は、25 μ g/mlの濃度のMAGで飽和されるようである。MAGによるRhoAの活性化は、p75^{NTR}遺伝子に変異を保有するマウス由来のニューロンでは失われていた(図3D)。これらのデータは、MAGがp75^{NTR}依存性機構によってRhoAを活性化し、ゆえに、生後小脳顆粒ニューロンの神経突起伸展を阻害する、ということを実証する。

【0841】

優先的にGDP結合形態であるが、RhoAの構成的活性形態ではないRhoAの野生型のみが、p75^{NTR}と相互作用する(Yamashita, T. ら, Neuron. 24; 585-593, 1999)。トランスフェクト細胞において、p75^{NTR}の過剰発現は、ニューロトロフィン依存性様式でRhoAを活性化した。従って、RhoAのGDP結合形態は、MAGへの曝露後に、p75^{NTR}ヘリックスドメインと相互作用し活性化され得る。p75^{NTR}のより詳細な構造機能分析は、p75^{NTR}によるRhoA活性の調節の正確な機構を解明することを補助するはずである。

【0842】

(実施例1-3: p75^{NTR}およびMAG結合の同時局在)

MAGはシアル酸依存性様式でニューロンに結合するが、MAGのシアル酸結合部位は、その神経突起阻害活性とは異なる。MAGへのシアル酸依存性結合は、MAGの阻害効果に十分でも必要でもない(Tang, S. ら, J. Cell Biol. 138: 1355-1366, 1997a)。従って、MAGの結合パートナーおよびシグナル伝達エレメントがレセプター複合体を形成し得る可

能性がある。本発明者らは、MAGの結合パートナーおよび p 7 5 N T R が、シス様式で相互作用し得ると想定した。この仮説を試験するために、p 7 5 N T R およびMAG結合の局在を、細胞レベル下で評価した。

【0843】

MAG-Fcの結合を、蛍光タグ化抗ヒトIgGを用いたインキュベーションによって可視化した。図4は、共焦点レーザー顕微鏡を用いた成体DRGニューロンに対するMAG-Fcの結合を示す。MAG-Fc結合は、斑点状のようである。同じ細胞を、抗p 7 5 N T R抗体を用いて染色し、そして分布を評価した。細胞体でのp 7 5 N T R発現は、細かい小斑点染色を示した神経突起上よりも分散していた(図4A、上部)。p 7 5 N T R免疫反応性の斑点の大部分は、MAG結合と同時局在した。高倍率において、神経突起原形質膜上のホットスポットの類似した分布から、同時局在は明らかであった(図4A、下部)。MAG-Fcの結合は、p 7 5 N T R遺伝子に変異を保有するマウス由来のDRGニューロンにおいてもなお観察された(図4B)。これらのデータは、p 7 5 N T RおよびMAG結合の同時局在を実証する。

【0844】

(実施例1-4: p 7 5 N T Rは、ガングリオシドGT1bに結合する)

本発明者らは次に、マウス由来の生後小脳から調製した溶解物を用いて、内因性p 7 5 N T RとMAGの相互作用を調べた。MAG-Fc沈降物において、抗p 7 5 N T R抗体によって、p 7 5 N T Rに対応するタンパク質の存在が明らかになった(図5A)。しかし、MAG-Fcは、本発明者らの予備実験において組換えp 7 5 N T Rタンパク質を沈降しなかったことから、これらのデータは、MAGとp 7 5 N T Rとの間接的な相互作用を示唆する。従って、p 7 5 N T Rは、結合パートナーではないが、シグナル伝達エレメントであり得る。

【0845】

MAGは、ニューロンの細胞表面上に存在する特定のシアリル化されたグリカンおよびガングリオシドに結合する。末端 α -2-3連結シアリ酸を保有する特定のガングリオシドに結合するMAGの能力は、十分に記載されている(Yang, L. J. ら, Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 93:81

4-818, 1996)。MAGは、GT1bおよびGD1a、ならびに α 系列のガングリオシドに結合することが示され、そしてGD1aではなく細胞表面GT1bの抗体架橋は、MAGの効果を模倣する(Vinson, M. ら, J. Biol. Chem. 276:20280-20285, 2001)。複合ガングリオシドノックアウトマウスの神経系の病的特徴は、MAGの遺伝子が破壊されたマウスで報告された特徴と非常に類似する(Sheikh, K. A. ら, Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 96:7532-7537, 1999)。これらのデータから、本発明者らは、p75^{NTR}とこれらのガングリオシドとの会合を試験することを試み、p75^{NTR}およびガングリオシドがMAGに対するレセプター複合体を形成することを予測した。

【0846】

Sf21細胞から精製した、Fcに融合した組換えp75^{NTR}細胞外ドメインを使用して、ガングリオシドを沈降した。p75^{NTR}沈降物において、抗GT1b抗体によって、約100kDのバンドの存在が明らかになった(図5B、左)。ポジティブバンドがp75^{NTR}であることを確認するために、抗GT1b抗体をメンブランから取り除き、そしてこのメンブランを、抗p75^{NTR}抗体を用いて再プローブ化した。この結果によって、ポジティブバンドがp75^{NTR}であることが示された(図5B、右)。これは、GT1bの非特異的相互作用ではない。なぜなら、EGFレセプターの細胞外ドメインとGT1bとの会合は観察されなかったからである。従って、GT1bは、SDS耐性様式でp75^{NTR}に結合する。GD1aもまた、MAGと会合することが示されたが(Vinson, M. ら, J. Biol. Chem. 276:20280-20285, 2001)、本発明者らは、p75^{NTR}とGD1aとのいかなる相互作用も見出さなかった(図5C)。さらに、p75^{NTR}とGM1との相互作用も見出されなかった(図5C)。これらのことは、p75^{NTR}とGT1bとの特異的な相互作用を実証する。抗GT1b抗体を用いて、本発明者らは、マウス由来の生後小脳から調製した溶解物を使用して、内因性p75^{NTR}とGT1bとの相互作用を調べた。抗体を用いた免疫細胞化学によって、これらのニューロン表面上でのGT1bの発現が確認された。GT1b免疫沈降物において、抗p75^N

TR抗体によって、p75NTRに対応するタンパク質の存在が明らかになった(図5D)。抗GT1b抗体と合成GT1bとのプレインキュベーションによって、p75NTRの検出がなくなった。最後に、本発明者らは、トランスフェクト293細胞(この細胞は、細胞表面上にGT1bを豊富に発現する)を用いてp75NTRとGT1bとの相互作用を評価した。予想したように、免疫沈降されたp75NTRは、SDS耐性様式で、GT1bと複合体化した(図5E)。これらのデータは、GT1bとp75NTRとがMAGに対するレセプター複合体を形成することを示唆する。

【0847】

上記の結果から、p75NTRは二重のシグナルを誘発する分子であると考えられる。p75NTRは、単にニューロトロフィン(例えば、CRNF)(Fainzilber, M. ら, Science 274:1540-1543, 1996)または狂犬病ウイルス糖タンパク質(Tuffereau, C. ら, EMBO J. 17:7250-7259, 1998)に結合するだけではないことが示されているが、これらのリガンドが任意のシグナルをp75NTRを通して誘発するか否かは知られていない。従って、p75NTRが、ニューロトロフィンだけでなく、MAGのシグナル伝達因子でもあるということを実証する本発明者らの知見は、興味深いものである。さらに興味深いことに、p75NTRに結合するニューロトロフィンは、RhoA活性を阻害することによって、おそらくニューロンの軸索伸展を促進する(Yamashita, T. ら, Neuron. 24:585-593, 1999)が、MAGは、RhoAを活性化することによって、p75NTRを介してニューロンに対して反対の効果を誘発する。これは、p75NTRが伝達エレメントとして二重のシグナルを有することを意味する。本質的に全ての成体ニューロンがMAGによる阻害に感受性である。一方、p75NTRが制限された分布することに注目することもまた、重要である。MAGシグナルの同定および特徴づけは、ニューロンが細胞外阻害分子に応答するという以前は認識されていなかった機構を解明する。

【0848】

(実施例2:細胞質p21Cip1/WAF1は、Rhoキナーゼ活性を阻害

することによって、神経突起リモデリングを調節する)

実施例 1 によって示されるように、p75^{NTR}が双方向性シグナルを誘発することが示された。本発明者らは次に、p75^{NTR}による Rho 活性の調節の正確な機構について分析した。

【0849】

(方法)

(材料および方法)

(動物)

p75^{NTR}遺伝子の第3エクソンの標的化された崩壊を保有するマウス系統 (Lee, K. F. et al. Cell 69, 737-749 (1992)) を使用した。このマウスは、C57BL/6Jバックグラウンドで、最初は Jackson Laboratory (Bar Harbor, Maine) から入手した。

【0850】

(同時免疫沈降)

アミノ末端をFLAGタグ化したヒトp75^{NTR} (配列番号3および4) および/またはHAタグ化RhoA (Yamashita, T., et al. Neuron 24, 585-593 (1999)) (配列番号11および12) を、Lipofectamine 2000 (Gibco BRL) を用いてリポフェクションによって293T細胞またはNIH-3T3細胞にトランスフェクトした。細胞を、溶解緩衝液 (10mM Tris-HCl (pH7.5)、150mM NaCl、0.2% NP-40、25μg/ml ロイペプチン および25μg/ml アプロチニン) を用いて20分間氷上で溶解した。この溶解物を、20分間13,000gで遠心分離し、そしてこの上清を収集した。次いでこれらを、抗FLAG抗体 (FLAG-p75^{NTR}でトランスフェクトしたものに対して) または抗p75抗体 (Chemicon) (小脳ニューロンに対して) を用いて3時間インキュベートした。免疫複合体を、プロテインAセファロース (Amersham Pharmacia) を用いて収集した。懸濁液を、1,000gで5分間遠心分離した。このペレットを、溶解緩衝液を用い

て4回洗浄し、SDS-PAGEに供し、続いて抗Rho GDI α 抗体 (Sigma) または抗RhoA抗体 (Santa Cruz Biotechnology) を用いて免疫ブロット分析に供した。示された場合、組換えラットMA G-Fcキメラ (25 μ g/ml、RD Systems Inc.)、Nog oペプチド (4 μ M、Alpha Diagnostic; 配列番号10)、T AT (PTDドメイン) 融合Pep5 (TAT-CFFRGGFFNHNPRY C) (配列番号2)、またはTAT (PTDドメイン) 融合コントロールペプチ ド (TAT-GGWKWWPGIF) (配列番号15) を使用した。これらのペ プチドを、化学合成し、そしてその組成物を、アミノ酸分析および質量分析法 (Sigma Genosys) によって確認した。アミノ末端をFLAGタグ化 したヒトp75^{NTR}を、p cDNA3.1発現プラスミド (Invitrog en) にクローニングした。

【0851】

(p75^{NTR}およびRho GDIの同時免疫沈降)

抗FLAG抗体およびプロテインAセファロースを用いてトランスフェクトし た293T細胞から沈降したp75^{NTR}を、200 μ lの緩衝液 (20mM Tris-HCl (pH7.5)、100mM NaCl、10mM EDTA、0.025% Tween20) 中で組換えヒトGST-Rho GDI (C ytoskeleton) またはGST-RhoA (Cytoskeleton) と共に2時間インキュベートし、洗浄した。得られる沈降物を、SDS-PA GE後に二フッ化ポリビニリデン膜に電気泳動的に転写し、そして抗GST抗体 (Sigma) を用いてイムノブロットした。ヌクレオチド依存性を調べるため に、GST-RhoAを、適切なヌクレオチドを用いてプレロードし、そしてE DTAを10mM MgCl₂と置換した。示された場合、Pep5またはコン トロールペプチド (GGWKWWPGIF (配列番号15)) を使用した。

【0852】

(組換えタンパク質の産生)

欠失を有するかまたは有さないp75^{NTR} ICDコード配列を、pGEX -5X細菌発現ベクター (Amersham Biosciences) にクロ

ーニングして、E. coli からGST融合タンパク質を作製した。pGEX-GST-Rho GDIは、Y. Takai博士から提供された。細胞を600 nm (OD600) で1.0の光学濃度に増殖させた後、1mM イソプロピル-1-チオ- β -D-ガラクトピラノシド (IPTG) を添加してタンパク質合成を誘導し、そして細胞をさらに16時間25℃にて増殖させた。グルタチオン-セファロース4B (Amersham Biosciences) を用いて融合タンパク質を精製し、そしてGST部分を、除去して、組換えRho GDIを生成した。タンパク質の純度は、SDS-PAGEによって決定し、そして濃度を測定した。ラットp75^{NTR} ICDの欠失変異体は、配列番号17の残基274~342、残基274~351、残基274~363、残基274~375、残基274~390、残基274~406、残基274~425 (Liepinsh, E., Ilag, L. L., Otting, G. & Ibanez, C. F., EMBO J. 16, 4999-5005 (1997))。GST-p75^{NTR}変異体とRho GDIとの複合体形成を、GST-p75^{NTR}変異体の沈降によって評価した。

【0853】

(GTP-RhoAのアフィニティー沈降)

アミノ末端でFLAGタグ化したヒトp75^{NTR}またはp75^{NTR} ICDの欠失変異体を、pcDNA3.1発現プラスミドにクローニングし、そしてこれらを、293T細胞にトランスフェクトした。細胞を、50mM Tris (pH7.5)、1% Triton X-100、0.5% デオキシコール酸ナトリウム、0.1% SDS、500mM NaCl、10mM MgCl₂、ならびに10 μ g/ml ロイペプチンおよび10 μ g/ml アプロチニン中に溶解した (Ren, X. D., Kiosses, W. B. & Schwartz, M. A., EMBO J. 18, 578-585 (1999))。細胞溶解物を、13,000g、4℃で10分間の遠心分離によって清澄化し、上清を、Rhotekinビーズ (Upstate Biotechnology) のGST-Rho結合ドメインの20 μ gを用いて、4℃にて45分間インキュベートした。このビーズを、洗浄緩衝液 (1% Triton X-100、1

50mM NaCl、10mM MgCl₂、10 μ g/ml ロイペプチンおよび10 μ g/ml アプロチニンを含む、50mM Tris (pH7.5)を用いて4回洗浄した。結合したRhoタンパク質を、RhoAに対するモノクローナル抗体 (Santa Cruz Biotechnology) を用いてウエスタンブロッティングによって検出した。

【0854】

(インビトロヌクレオチド交換アッセイ)

脂質改変したRhoAを、記載されるように (Forget, M. A., Desrosiers, R. R., Gingras, D. & Beliveau, R., Biochem. J. 361, 243-54 (2002))、酵母の膜から精製した。Rho GDIと複合体化した [³H] GDP-RhoAまたはRho GDIと複合体化したGDP-RhoAを、以前に記載されるように (Takahashi, K. et al., J Biol Chem. 272, 23371-23375 (1997))、 [³H] GDPの存在下または非存在下でGDP-RhoAを最初にインキュベートし、続いてRho GDIと30分間インキュベートすることによって得た。ゲル濾過に供したサンプルを、5mM MgCl₂、1mM ジチオトレイトールおよび0.1% CHAPSを含む20mM Tris-HCl (pH7.5)を用いて平衡化した。GDP解離およびGTP結合アッセイを、以前に記載されたように (Hart, M. J., Evans, A., Evans, T., Aaronson, S. A. & Cerione, R. A., Nature 354, 311-314 (1991))、フィルター結合方法によって実行した。 [³H] GDP解離アッセイにおいて、50nMの複合体を、30mM Tris-HCl (pH7.5)、5mM MgCl₂もしくは0.5 μ M MgCl₂、1mM EDTA (低濃度Mg)もしくは10mM EDTA (高濃度Mg)、0.1mM GTP、1mM ジチオトレイトール、0.12% CHAPS、ならびに0.2mg/ml ウシ血清アルブミン含む反応混合物 (50 μ l) 中、種々の濃度のGST-融合タンパク質を用いて20分間インキュベートした。 [³⁵S] GTP γ S結合アッセイにおいて、1 μ M [³⁵S] GTP γ Sを0.1mM GTPの代わりに使用した以外、複

合体を上記のようにインキュベートした。示された時間において、反応サンプルのアリコートをし、取り出し、ニトロセルロースフィルター (IPVH 000、Millipore) に通した。このフィルターを洗浄し、シンチレーションでのカウントに使用した。GSTタンパク質または緩衝液を、コントロールとして使用した。Hisタグ化したDbpAの触媒ドメインを、90 nMの濃度で使用した。

【0855】

(神経突起伸展アッセイ (インビトロ))

脊髄神経節を、成体マウスから取り出し、そして0.025% トリプシンおよび0.15% 1型コラゲナーゼ (Sigma) を用いた37℃で30分間のインキュベーションによって、単一細胞に分離させた。小脳ニューロンについて、2匹の動物由来の小脳を、5 mlの0.025% トリプシン中で合わせ、粉碎し、そして37℃で10分間インキュベートした。10% FCSを含むDMEMを、添加し、細胞を800 rpmにて遠心分離した。ニューロンを、ポリ-L-リジンでコーティングしたチャンバスライド上のSato培地 (Cai, D., Shen, Y., De Bellard, M., Tang, S. & Filbin, M. T., Neuron 22, 89-101 (1999)) 中、プレートに播いた。伸展アッセイについて、プレートに播いた細胞を、24時間インキュベートし、そして4% (重量/容積) パラホルムアルデヒド中で固定し、そしてニューロン特異的 β チューブリンIIIタンパク質を認識するモノクローナル抗体 (TuJ1) を用いて免疫染色した。次いで、最も長い神経突起の長さまたは各 β チューブリンIII陽性ニューロンの総プロセスでの伸展を、決定した。示される場合、MAG-Fc (25 μ g/ml) またはNogoペプチド (4 μ M) を、プレートに播いた後、培地に添加した。pEF-BOS-myc-Rho GDIプラスミド (これは、Yoshimi Takai博士によって提供された) またはpEGFPプラスミドを、トランスフェクションのコントロールとして使用した。リポフェクションによるトランスフェクションの24時間後、細胞を再びプレートに播き、そして24時間インキュベートした。トランスフェクトされた細胞を決定するために、細胞を、透過処理し、そして抗myc抗体

(1:1000、Sigma)を用いて免疫染色した。

【0856】

(サイレンサおよび／またはp75^{NTR}とRho GDIとの間の相互作用を破壊する因子の、哺乳動物における神経再生効果)

200gの雄のWistarラットを使用して、第9胸椎の椎弓切除術を行った後、脊髄の背側半分を切断した。持続浸透圧ポンプを用いて損傷部位へのTAT(PTDドメイン)融合Pep5(TAT-CFFRGGFFNHNPRYC)(配列番号2)またはTAT(PTDドメイン)融合コントロールペプチド(TAT-GGWKWWPGIF)(配列番号15)のいずれかの持続的な投与を6週間(1mg/体重/日)行った。その際、ポンプに接続したチューブの先端を髄腔内に留置した。脊髄損傷後の機能回復の指標として、BBBスコアを使用し、損傷後7日、14日、21日、28日、35日、42日後に観察を行った。これらの実験は、Fournier A. E., Takizawa, B. T., Strittmatter, S. M., J. Neurosci. 2003, 23, 1416-1423に記載される技術を用いて行った。

【0857】

同様の実験を、抗p75^{NTR}抗体、抗Rho GDI抗体、およびp75^{NTR}の細胞外ドメインを用いて実施したところ同様の神経再生効果が観察された。

【0858】

これらの実験は、Fournier A. E., Takizawa, B. T., Strittmatter, S. M., J. Neurosci. 2003, 23, 1416-1423に記載される技術を用いて行った。

【0859】

上述のように、

(実施例2-1:p75^{NTR}とRho GDIとの結合)

本発明者らはまず、RhoAとRho GDIとの複合体がp75^{NTR}の細胞内ドメインと会合するか否かを調べた。内因性にRho GDIを発現するがp75^{NTR}は発現しない293T細胞を、FLAGタグ化p75^{NTR}および

HAタグ化野生型RhoAを用いてトランスフェクトした。p75^{NTR}沈降物において、抗Rho GDI抗体によって、Rho GDIに対応するタンパク質の存在が明らかになった(図6a)。以前示されたように(Yamashita, T., Tucker, K. L. & Barde, Y. A., Neuron 24, 585-593 (1999))、RhoAは、複合体中に含まれていた。本発明者らは次に、この相互作用が、p75^{NTR}依存性機構を介してRhoAを活性化することが示されているMAGまたはNogoによって強化されるか否かを調べた。内因性のNogoレセプターを発現する(データには示さない)N1E-115細胞を、FLAGタグ化p75^{NTR}を用いてトランスフェクトした。Nogoの細胞外フラグメントの残基31~55に対応するペプチド(4 μ M)(Fournier, A. E., GrandPre, T. & Strittmatter, S. M., Nature 409, 341-346 (2001))および可溶性MAG-Fc(25 μ g/ml)は、p75^{NTR}とRho GDIおよびRhoAとの相互作用を有意に増強した(図6b)。対照的に、p75^{NTR}によってRhoAを不活性化するNGF(100 ng/ml)は、p75^{NTR}とRho GDIおよびRhoAとの相互作用を破壊した。本発明者らは、以前に、内因性p75^{NTR}とRhoAとの相互作用がニューロン中で観察され得ないということに注目していた(Yamashita, T., Tucker, K. L. & Barde, Y. A., Neuron 24, 585-593 (1999))。従って、本発明者らは、マウス由来の生後小脳ニューロン(P9)から調製した溶解物を用いて、内因性p75^{NTR}とRho GDIおよびRhoAとの相互作用を調べた。図6cに示されるように、内因性p75^{NTR}とRhoAおよびRho GDIとの会合が、MAGまたはNogoを用いた刺激の後にのみ観察され、このことは、p75^{NTR}が、内因性p75^{NTR}を発現する細胞においてRhoAの構成性アクチベーターではあり得ないことを示唆する。これらの知見は、RhoAと複合体化したRho GDIが、p75^{NTR}と相互作用すること、そしてこの相互作用がMAGおよびNogoによって強化されることを実証する。

【0860】

(実施例2-2: p75^{NTR}とRho GDIとの直接的相互作用)

RhoAが、酵母ツーハイブリッドスクリーニングによってp75^{NTR}相互作用タンパク質として単離されたので、RhoAは、p75^{NTR}に直接結合することが示唆された(Yamashita, T., Tucker, K. L. & Barde, Y. A., Neuron 24, 585-593 (1999))。しかし、酵母における内因性Rho GDIが哺乳動物Rhoファミリーのメンバーに対して活性であるという事実(Masuda, T. et al., J. Biol. Chem. 269, 19713-19718 (1994))は、酵母Rho GDIと複合体化したRhoAが酵母中のp75^{NTR}と会合し得るという代替的な可能性も議論の余地があるものとしている。従って、本発明者らは次に、精製組換えタンパク質を用いて、p75^{NTR}とRho GDIまたはRhoAとの直接的な物理的相互作用を調べた。GDP結合状態の細菌産生させたRhoA、GTP結合状態の細菌産生させたRhoA、またはヌクレオチド涸渇状態の細菌産生させたRhoAを、トランスフェクトした293T細胞から免疫沈降したp75^{NTR}と共にインキュベートした。しかし、本発明者らは、いかなるヌクレオチド状態においてもこれらの間の相互作用を観察しなかった(図7a)。興味深いことに、組換えRho GDIは、p75^{NTR}に結合した。プレニル化RhoAがRho GDIと複合体化した場合、このプレニル化RhoAはp75^{NTR}と会合し、このことは、RhoAではなくRho GDIが、p75^{NTR}と直接複合体化することを示唆する。

【0861】

本発明者らは、Rho GDIとp75^{NTR}との間の相互作用の、構造的な基礎を決定した。p75^{NTR}の細胞内ドメイン(ICD)の6個の α ヘリックスのうちの5番目が、14マーのペプチドであるマストパランと有意な類似性を示す(Feinstein, D. L. & Larhammar, D., FEBS Lett. 272, 7-11 (1990))。マストパランは、RhoAを活性化することが公知の毒バチの両親媒性成分である(Koch, G., Haberman, B., Mohr, C., Just, I. & Aktories, K., FEBS Lett. 291, 336-40 (1991))。p75^{NTR}

ICDの欠失変異体を用いた実験によって、この5番目のヘリックスがp75 NTRとRho GDIとの相互作用に必要であることが示された(図7b)。これらの結果は、MAGおよびNogoによるRhoAの活性化が、Rho GDIとp75 NTR ICDの第5ヘリックスとの相互作用に依存し得ることを示唆する。この仮説をより直接的に試験するために、本発明者らは、内因性にp75 NTRを発現しない293T細胞を使用した。RhoAのGTP結合形態のアフィニティー沈降によって、以前に示されたように(Yamashita, T., Tucker, K. L. & Barde, Y. A., Neuron 24, 585-593 (1999))、RhoAが全長p75 NTRまたはp75 NTR ICDの過剰発現によって活性化されることが明らかになった。予想したように、この第5ヘリックスを欠く欠失変異体は、RhoAを活性化しなかった(図7c)。このことは、この第5ヘリックスがp75 NTRによるRhoAの活性化に必要であることを実証する。

【0862】

(実施例2-3: Rho GDIからRhoAを離脱させる、p75 NTRの置換効果)

細菌によって発現させたp75 NTRを用いたインビトロアッセイでの実験によって、組換えRhoAに対するGDP/GTP交換活性は示されなかった(図8a)。これらの結果は、RhoAがp75 NTRと直接会合しないという事実と組み合わせると、p75 NTRがRho GDIの活性を低減し、ゆえに、Rho GDIからのRhoAの離脱を促進するという可能性を生じさせる。この工程は、グアニンヌクレオチド交換因子による活性化およびRhoタンパク質のGTP結合形態の膜会合を可能にする(Sasaki, T. & Takai, Y., Biochem Biophys Res Commun. 245, 641-645 (1998))。本発明者らはまず、低濃度Mg²⁺においてRhoAのGDP/GTP交換反応を阻害するRho GDIの能力に対する、Rho GDIとp75 NTRのらせンドメイン(HD)との相互作用の効果を調べた。なぜなら、Rho GDIの阻害効果は、低濃度のMg²⁺においてより明らかであるからである(Takahashi, K. et al., J Biol Ch

em. 272, 23371-23375 (1997))。この反応は、Rho GDIと複合体化した $[^3\text{H}] \text{GDP-RhoA}$ からの $[^3\text{H}] \text{GDP}$ の解離、ならびにRho GDIと複合体化した GDP-RhoA に対する $[^{35}\text{S}] \text{GTP}\gamma\text{S}$ の結合を測定することによって、概算した。p75^{NTR} HDは、用量依存様式でRho GDI活性を低減した(図8b)。比較可能な条件下で、グルタチオンSトランスフェラーゼ(GST)は、Rho GDI活性に影響を与えなかった(図8b)。これらの結果は、p75^{NTR} HDがRho GDIと直接相互作用して、RhoAのGDP/GTP交換反応を阻害するRho GDIの能力を低減させる能力を有することを実証する。本発明者らは次に、高濃度 Mg^{2+} におけるRhoAのDb1刺激GDP/GTP交換反応を阻害するRho GDI能力に対する、p75^{NTR} HDの効果を調べた。Rhoグアニンヌクレオチド交換因子(Rho GEF)(例えば、Db1)は、Rho GDI非存在下で GDP-RhoA のGDP/GTP交換反応を刺激するが、高濃度 Mg^{2+} においてRho GDIと複合体化した GDP-RhoA のGDP/GTP交換反応は刺激しない(Yaku, H., Sasaki, T. & Takai, Y., Biochem Biophys Res Commun. 198, 811-817 (1994))。Db1は、 GDP-RhoA からのGDPの解離を刺激した(図8a)が、Rho GDIと複合体化した GDP-RhoA からのGDPの解離は、顕著に低減された(図8c)。しかし、GDPの解離は、p75^{NTR} HDによって回復した。Rho GDI活性に対するp75^{NTR} HDの阻害効果は、用量依存的であった。p75^{NTR} ICDは、p75^{NTR} HDと同じ程度の阻害効果を示した(図3c)。これらの結果は、Rho GDIとp75 HDとの相互作用が、Rho GEF非依存性のRhoAのGDP/GTP交換反応およびRho GEF依存性のRhoAのGDP/GTP交換反応の両方で、Rho GDIの活性を増大させることを実証する。

【0863】

p75^{NTR}はインビトロにおいてRho GDIからRhoAを離脱させる能力を有するので、p75^{NTR}を介したMAGおよびNogoによるRhoAの活性化は、Rho GDIからRhoを離脱させる活性に起因し得る。MAG

ならびにN o g o ペプチドは、生後小脳ニューロンからの神経突起伸展を有意に阻害したが、R h o G D I の過剰発現は、これらの阻害効果を破壊した（図8 d）。これらの結果は、p 7 5 N T R がR h o G D I 解離因子として作用するという本発明者らの示唆と一致する。

【0864】

（実施例2-4：p 7 5 N T R とR h o G D I との相互作用に対するペプチドリガンドの効果）

現在までに同定されている軸索再生のミエリン由来インヒビターの全ては、p 7 5 N T R を介してニューロンに作用し、中枢神経系への損傷後のp 7 5 N T R シグナル伝達の妨害は、軸索再生のミエリン依存性阻害を緩和し得る。R h o G D I 会合の正確な領域を示すことによって、本発明者らは、p 7 5 N T R の機能の特異的に阻害する戦略を開発することが可能となった。p 7 5 N T R H D への特異的なペプチドリガンドは、以前コンビナトリアルライブラリーから得られた（I l a g, L. L. e t a l., B i o c h e m B i o p h y s R e s C o m m u n. 255, 104-109 (1999)）。このリガンドは、15アミノ酸残基のペプチド（P e p 5；C F F R G G F F N H N P R Y C（配列番号2））であり、そして結合部位は、核磁気共鳴分光法によって、ヘリックス5およびヘリックス6によって組み立てられる疎水性断片上にマッピングされた。しかし、このペプチド配列が哺乳動物中に存在するタンパク質であるという事は示唆されなかった。本発明者らは、このペプチドがR h o G D I のp 7 5 N T R H D に対するリクルートメントを破壊するサイレンサとしての役割を果たし得るという可能性に興味を持ち、そして驚くべきことに、実際にこのペプチドがサイレンサとして機能し得ることを実証した。本発明者らはまず、p 7 5 N T R がP e p 5 と会合するか否かを確認した。P e p 5 を含有するグルタチオンSトランスフェラーゼ融合タンパク質（G S T - P e p 5）を、p 7 5 N T R を豊富に発現する生後小脳由来から調製した溶解物と共にインキュベートした。G S T - P e p 5 沈降物において、抗p 7 5 N T R 抗体によって、p 7 5 N T R に対応するタンパク質の存在が明らかになった（図9 a）。次いで、結合親和性をP e p 5 とR h o G D I. p 7 5 N T R との間で比較した。トランスフェ

クトした 293T 細胞の溶解物を免疫沈降し、精製した p75^{NTR} を、1 μ M GST-Rho GDI および示された濃度の Pep5 と共にインキュベートした (図 9b)。Pep5 は、p75^{NTR} と Rho GDI との会合を用量依存的に阻害したが、コントロールペプチドは阻害しなかった。従って、Pep5 は、インビトロにおいて p75^{NTR} によって媒介されるシグナルを破壊する能力を有する。このペプチドリガンドは、インビボにおいて p75^{NTR} HD に対して直接的に作用する場合、細胞への侵入を増大させなければならないので、本発明者らは、ヒト免疫不全ウイルスタンパク質からのアミノ末端 11 アミノ酸タンパク質導入ドメイン (PTD ドメイン) と融合させた Pep5 (TAT-Pep5) を作製した (Schwarze, S. R., Ho, A., Vocero-Akbani, A. & Dowdy, S. F., Science 285, 1569-1572 (1999))。解離小脳ニューロンにおける MAG-Fc によって誘導される p75^{NTR} と Rho GDI との相互作用は、競合様式で TAT-Pep5 によって有意に阻害されたが、TAT (PTD ドメイン) 融合コントロールペプチドによって阻害されなかった (図 9c)。従って、Pep5 は、p75^{NTR} との Rho GDI 会合のインヒビターとして使用され得る。

【0865】

同様の結果が、抗 p75^{NTR} 抗体、抗 Rho GDI 抗体、および p75^{NTR} の細胞外ドメインを用いて実施した場合にも観察された。

【0866】

(実施例 2-5: Pep5 によるミエリンシグナルのサイレント化)

本発明者らが次に取り組んだ問題は、Pep5 が MAG または Nogo の効果を阻害するか否かということである。本発明者らは、MAG または Nogo の効果を測定するために神経突起成長アッセイを使用した。本発明者らは、配列番号 4 の残基 368~381 に対応するラット p75^{NTR} 由来の別のコントロールペプチドを使用した。このペプチドは、100 nM (図 10b) または 10 μ M (データには示さない) の濃度において、脊髄神経節 (DRG) ニューロンの神経突起伸延に影響を与えず、そして MAG-Fc の作用にも (図 10b) Nogo ペプチドの作用にも (データには示さない) 影響を与えなかった。しかし、1

00 nMの濃度で培養ニューロンに外因的に添加されたTAT-Pep5は、MAG ($25 \mu\text{g/ml}$) ならびにNogoペプチド ($4 \mu\text{M}$) に対する応答性を破壊した(図10a、b)。生後小脳ニューロンを使用して、Pep5の効果を調べた。DRGニューロンにおいて観察されたように、TAT-Pep5は、MAG ($25 \mu\text{g/ml}$) およびNogoペプチド ($4 \mu\text{M}$) の阻害効果を効果的にサイレント化した(図10c、d)。最後に、このペプチドがp75NTRシグナル伝達のサイレンサとして作用することをより明確に示すために、本発明者らは、アフィニティー免疫沈降によってRho活性を測定した。予想したように、RhoAは、MAG-FcまたはNogoペプチドの生後小脳ニューロンへの添加30分後に活性化されたが、TAT-Pep5は、これらの細胞に対するMAG-FcまたはNogoペプチドによって誘導されるRhoAの活性化を阻害した(図10e)。これらの知見は、Pep5がRho GDIとp75NTRとの会合を阻害することによって、p75NTRを介したRhoAの活性化を阻害することを、強く示唆する。

【0867】

同様の結果が、抗p75NTR抗体、抗Rho GDI抗体、およびp75NTRの細胞外ドメインを用いて実施した場合にも観察された。

【0868】

(実施例2-6: サイレンサおよび/またはp75NTRとRho GDIとの間の相互作用を破壊する因子の、インビボにおける神経再生効果)

200gの雄のWistarラットを使用して、第9胸椎の椎弓切除術を行った後、脊髄の背側半分を切断した。持続浸透圧ポンプを用いて損傷部位へのTAT融合Pep5またはTAT(PTDドメイン)融合コントロールペプチドのいずれかの持続的な投与を行った。その結果、コントロールペプチドの場合と比較して、TAT-Pep5を用いた場合に顕著な神経再生が観察された。

【0869】

同様の結果が、抗p75NTR抗体を用いて実施した場合にも観察された。

【0870】

(実施例2-7: マウスにおける実証)

上記と同様の実験をマウスを用いて行ったところ、同様に、TAT融合Pep 5および抗p75NTR抗体を用いた場合に、神経の再生が確認された。

【0871】

(実施例2-8：改変アミノ酸)

同様の実験をPep 5の配列（配列番号2）のC末端にアラニンを付加したものの、p75の細胞外ドメインに対する抗体、配列番号4の273-427位のうち、423位のアラニンをバリンに変更したもので行ったところ、同様に、神経の再生が確認された。

【0872】

(実施例2-9：他の因子)

同様の実験を、Pep 5ポリペプチドをコードする核酸分子、p75ポリペプチドに対して特異的に相互作用する因子としての抗体、p75ポリペプチドをコードする核酸分子に対して特異的に相互作用する因子としてのアンチセンスおよびRNAi、p75細胞外ドメインポリペプチド、p75細胞外ドメインポリペプチドをコードする核酸分子、MAGポリペプチドに対して特異的に相互作用する因子としての抗体を用いた場合でも同様にインビトロで神経突起が伸長することが観察され、かつ、インビボで神経が再生することが観察された。

【0873】

神経に関連する疾患、障害および状態は、特に成体において再生が困難であるという特殊事情から、その治療についても根本的な治療が困難といわれてきた。しかし、本発明の上述のような効果によって、従来では不可能とされていた診断が可能となり、治療にも応用することができることが明らかとなった。したがって、本発明は、従来の診断薬でも医薬でも達成不可能であった有用性を有するといえる。

【0874】

(実施例3：p75NTRに対する中和抗体は、損傷CNSにおいて軸索再生を促進する)

p75NTRを中心としたシグナル伝達経路をさらに詳細に調べるために、本発明者らは、p75NTRに対する抗体がこの経路に与える影響について分析し

た。

【0875】

(材料および方法)

本質的に、実施例 1 および実施例 2 と同様の材料および方法で実施した。

【0876】

(実施例 3-1: 抗 p 7 5 N T R 抗体は、ミエリン結合インヒビターに対する有望な薬剤である)

本発明者らは、神経突起成長アッセイを用いて、M A G、N o g o およびミエリンの効果を測定した。M A G-F c (25 μ g/ml) およびミエリン、ならびに N o g o ペプチド (4 μ M) (N o g o の細胞外フラグメントの残基 31~55 に対応する; F o u r n i e r, A. E. ら, N a t u r e 409, 341-346, 2001) は、生後小脳ニューロンからの神経突起伸展を有意に阻害した (図 11 a)。p 7 5 N T R のドミナントネガティブ形態として作用することが予想される、F c に融合した組換え p 7 5 N T R 細胞外ドメインは、N o g o 阻害効果を部分的に阻害し、一方、p 7 5 N T R への N G F の結合をブロックするために使用され得る p 7 5 N T R の細胞外ドメインに対するポリクローナル抗体 (A B 1554、C h e m i c o n) は、神経突起阻害効果を有意に軽減した (図 11 a)。抗体自体は、神経突起伸展に何の効果も有さなかった。この作用は、p 7 5 N T R のシグナル伝達の阻害によって媒介される。なぜなら、N o g o ペプチドによる R h o A の活性化は、この抗体によって破壊されたからである (図 11 b)。この抗体の阻害効果は、p 7 5 N T R と N o g o レセプターとの会合を阻害することに依存し得る。なぜなら、カエル p 7 5 N T R に対する抗体を用いて以前に示されたように (W o n g, S. T. ら, N a t. N e u r o s c i. 5, 1302-1308, 2002)、N o g o レセプターと p 7 5 N T R との相互作用が、この抗体によって低減されたからである (図 11 c)。これらの結果は、この抗体がミエリン結合インヒビターに対する有望な薬剤であることを示す。

【0877】

(実施例 3-2: 抗 p 7 5 N T R 抗体は、損傷 C N S において軸索再生を促進

する)

本発明者らは次に、成体マウスにおいて、胸部レベル T10/T11 での背側の半側切断損傷後、皮質脊髄路 (CST) 線維の再生を促進する抗体の能力を試験した。抗 p75 抗体またはコントロール抗体を、その損傷部位の上に配置したカテーテルを用いて浸透圧ミニポンプ (Alzet 1002, Durect Corp., Cupertino, CA; 2週間にわたって1時間あたり $0.25 \mu\text{l}$ での、 $100 \mu\text{l}$ 溶液) を介して送達した。CST を、運動皮質への順行性ニューロントレーサ BDA の注射によって、順行性に標識した (Fournier, A. E. ら, J. Neurosci. 23, 1416-1423, 2003)。損傷後、運動機能の回復を、改変 BBB スケール (Dergham, P., Ellezam, B., Essagian, C., Avedissian, H., Lubell, W. D. & McKerracher, L., J. Neurosci. 22, 6570-6577 (2002)) を用いて評価した。レベル T10/T11 にて背側の半側切断を受けた動物は、最終的に、改変 BBB スケールによって評価されるように、部分的な機能回復を得た (図 12a)。抗 p75 抗体で処理したマウスの機能回復は、損傷後の 7 日目～4 週間にかけて、コントロール抗体で処理したマウスの機能回復よりも有意に高かった。抗 p75 抗体で処理したマウスにおいて、損傷部位に対して 2 mm 尾方の横断面は、脊髄の背側半分において再生している軸索の数の増加を示した (図 12b)。再生している軸索の数は、脊髄の背側半分において二倍に増加した (図 12c)

(実施例 3-3: 他の因子)

同様の実験を、Pep5 ポリペプチド、Pep5 ポリペプチドをコードする核酸分子、p75 ポリペプチドに対して特異的に相互作用する因子としての抗体、p75 ポリペプチドをコードする核酸分子に対して特異的に相互作用する因子としてのアンチセンスおよび RNAi、p75 細胞外ドメインポリペプチド、p75 細胞外ドメインポリペプチドをコードする核酸分子、MAG ポリペプチドに対して特異的に相互作用する因子としての抗体、MAG ポリペプチドをコードする核酸分子に対して特異的に相互作用する因子としてのアンチセンスおよび RNAi を用いた場合でも同様に、インビボで神経が再生し、脊髄機能が回復すること

が観察された。

【0878】

(実施例4:細胞質 p21Cip1/WAF1は、Rhoキナーゼ活性を阻害することによって、神経突起リモデリングを調節する)

活性な神経発生期間の間に、いくつかの神経芽細胞は、有糸分裂後状態に入り、次いで、それらの最終到達点に移動し始める。胚性ヒヨコ網膜において、神経節細胞は、胚5日目(E5)辺りで活性に生成される(Frade, J. M., Development 124:3313-3320, 1997)。本発明者らは、これらの細胞におけるp21Cip1/WAF1の発現を調べ、p21Cip1/WAF1がこれらの細胞の分化および形態形成に関与するか否かを試験した。

【0879】

(材料および方法)

(ヒヨコ網膜およびヒヨコ網膜細胞の調製)

ヒヨコE5胚全体(White Leghorn)を、PBS中の4% パラホルムアルデヒドで一晩固定し、30% スクロースに浸した。網膜の細胞切片(厚み30 μ m)を、前頭面で切断し、スライドガラス上で溶かしてマウントし、室温で乾燥させた。網膜ニューロン培養に関して、E5胚からの網膜を、色素上皮から切開して遊離させ、そして以前に記載されるように(Rodriguez-Tebar, A. ら, Dev. Biol. 136:296-303, 1989; de la Rosa, E. J. ら, Neuroscience. 58:347-352, 1994) 解離させた。解離させた細胞を、4ウェルチャンバースライド(Nalge Nunc International K. K.) 上でプレートに播いた(20,000細胞/cm²)。このプレートは、ポリ-L-オルニチン/ラミニン(Sigma-Aldrich)を用いて事前にコーティングしておいた(Collins, F., Dev. Biol. 65:50-57, 1978)。細胞を、N2補充物を含むDME/F12混合物(1:1)中で培養し(Bottenstein, J. E. およびG. H. Sato, Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 76:514-517, 1979)、

5% CO₂を含む水飽和雰囲気中37℃にて12時間維持し、そしてPBS中の4% パラホルムアルデヒドで固定した。

【0880】

(プラスミド構築)

pEGFP-full-p21 (aa 1~164) (配列番号23) および pEGFP-ΔNLS-p21 (配列番号23のaa 1~140) は、GFP融合タンパク質の哺乳動物発現ベクターである (Asada, M. ら, EMBO J. 18:1223-1234, 1999)。pEF-BOS中のMyc-Rho-キナーゼは、K. Kaibuchi博士 (Nagoya University, Nagoya, Japan) によって供与された。

【0881】

(細胞培養およびトランスフェクション)

NIH3T3細胞、N1E-115細胞、および293T細胞を、10% 胎仔ウシ血清を含むDME中で維持した。Lipofectamine 2000 (Invitrogen) をトランスフェクションに使用した。張線維形成アッセイに関して、NIH3T3細胞をトランスフェクション後、血清不含培地中で16時間培養した。張線維形成を、この細胞を10%血清と10分間インキュベートすることによって引き起こした。海馬ニューロンを、以前に記載されたように (Neumann, H. ら, Science. 269:549-552, 1995)、18日齢のSprague-Dawleyラットから調製した。簡単に言うと、海馬を切開し、髄膜を取り出した。切り取った組織を、粉碎によって解離させた。解離した細胞をポリ-L-リジン (Sigma-Aldrich) で予めコーティングしたディッシュにプレートし、10% 胎仔ウシ血清を含むDME中で24時間培養した。次いで、培地をB27 (Invitrogen) を補充したDMEと置換し、そしてこれらの細胞をGFPまたはGFP-ΔNLS-p21でトランスフェクトした。ニューロン形態をトランスフェクトの24時間後に評価した。

【0882】

(N1E-115細胞の形態学的分析)

N1E-115細胞を、GFP、GFP-f u l l -p 2 1またはGFP-ΔNLS-p 2 1でトランスフェクトし、そして血清飢餓状態で5時間培養した。次いで、培地を、10%胎仔ウシ血清を含むDMEと置換した。細胞を、トランスフェクションの48時間後に固定した。細胞の形態を、3つの群に分類した；神経突起ポジティブ細胞、丸型細胞、および他の細胞。細胞体よりも長い神経突起を有する細胞を、神経突起ポジティブ細胞と規定した。他の細胞は、種々の特徴（微小な棘状の外見、波立った外見、および平らな外見など）を有した。

【0883】

(ΔNLS-p 2 1およびR h oキナーゼの同時免疫沈降)

293T細胞を、GFP-f u l l -p 2 1またはGFP-ΔNLS-p 2 1と組合わせたm y c -R h oキナーゼでトランスフェクトした。トランスフェクションの48時間後、細胞を、1mlの溶解緩衝液（50mM T r i s -H C l (pH7.5)、150mM N a C l、10% グリセロール、0.5% N o n i d e t -P 4 0、ならびにプロテアーゼインヒビターカクテルの錠剤；R o c h e）を用いて溶解した。細胞溶解物を、13,000gで20分間遠心分離し、上清を収集した。免疫沈降を、抗p 2 1C i p 1/WAF1マウスモノクローナル抗体（S a n t a C r u z B i o t e c h n o l o g y）および0.75mlの上清を用いて、4℃で2時間実行した。免疫複合体をプロテインG-Sepharose（A m e r s h a m P h a r m a c i a B i o t e c h）のスラリー（50% v o l / v o l）を用いて収集し、溶解緩衝液で4回洗浄し、そしてSDS-PAGEに供した。これを二フッ化ポリビニリデンメンブランに転写し、抗m y cウサギポリクローナル抗体（S a n t a C r u z B i o t e c h n o l o g y）を用いてプロットした。N1E-115細胞中の内因性タンパク質の相互作用を、抗R h oキナーゼ抗体を用いて同様に評価した。

【0884】

(インビトロ結合アッセイ)

組換え全長p 2 1C i p 1/WAF1（配列番号23の1~164、98%より高い純度、1nM；S a n t a C r u z B i o t e c h n o l o g y）お

よびRhoキナーゼフラグメントの精製GST融合タンパク質 (GST-CAT ; aa 6~553) を、1mlの緩衝液 (50mM Tris-HCl (pH 7.5)、150mM NaCl、5mM MgCl₂、1mM DTT、および1mM EDTA、ならびにプロテアーゼインヒビターカクテルの錠剤) 中で2時間インキュベートし、そしてGST-CATをグルタチオンセファロース (Amersham Pharmacia Biotech) を用いて沈降した。生じる沈降物を、10% ゲルを用いたSDS/PAGE後に、二フッ化ポリビニリデンメンブランに電氣的に転写し、そして、抗p21Cip1/WAF1抗体を用いて免疫プロットした。

【0885】

(キナーゼアッセイ)

Rhoキナーゼに関するキナーゼ反応を、S6キナーゼアッセイキット (Upstate Biotechnology) を用いて製造業者に指示書に従って実行した。簡単に言うと、インビトロアッセイに関して、10 μ lのアッセイ希釈緩衝液 (ADB: 20mM MOPS (pH 7.2)、25mM β -グリセロールホスフェート、5mM EGTA、1mM オルトバナジウム酸ナトリウム、および1mM ジチオスレイトール)、10 μ lの基質カクテル (250 μ M ADB中の基質ペプチド [AKRRRLSSLRA] (配列番号24))、10 μ lのインヒビターカクテル、10 μ lの [γ -32P] ATP混合物 ([γ -32P] ATPの10 μ Ciを含む、マグネシウム/ATPカクテル)、および20mUのRhoキナーゼフラグメント (aa 1~543; Upstate Biotechnology) を混合した。p21Cip1/WAF1と共に30℃で10分間インキュベートした後、反応混合物を、P81ホスホセルロースペーパーにスポットし、シンチレーションカウンターを用いて定量した。

【0886】

インビボアッセイに関して、293T細胞を、GFPまたはp21Cip1/WAF1構築物と組合わせたmyc-Rhoキナーゼで同時トランスフェクトした。細胞を、溶解緩衝液 (50mM Tris-HCl (pH 7.5)、150mM NaCl、10% グリセロール、1% Nonidet-P40および

プロテアーゼインヒビターカクテル)を用いて溶解した。キナーゼアッセイを、この溶解物を用いて実行した。

【0887】

(免疫染色)

免疫組織化学に関して、ヒヨコ網膜の切片を、透過化处理し、ブロッッキング緩衝液(PBS中の、0.1% Triton X-100、0.1% BSA、および5% ヤギ血清)を用いて室温で30分間ブロッッキングした。免疫細胞化学に関して、細胞を、透過化处理し、そして0.2% Triton X-100を含む緩衝液を用いてブロッッキングした。これを抗p21Cip1/WAF1抗体(1:1000)および抗 β -チューブリンクラスIIIウサギポリクローナル抗体(TuJ1)(1:2,000; Research Diagnostic, Inc.)を用いて4℃で一晩インキュベートし、次いで、Alexa 488標識ヤギ抗マウスIgG抗体(Molecular Probes)およびAlexa 568標識ヤギ抗ウサギIgG抗体(Molecular Probes)を用いて1時間インキュベートした。テトラメチルローダミンイソチオシアネート標識したファロイジン(1:1,000; Sigma-Aldrich)を用いて、NIH3T3細胞およびN1E-115細胞中のF-アクチンを検出した。海馬ニューロンを、抗TuJ1抗体を用いて免疫染色した。必要である場合、DAPI(300nM; Wako)を用いて核を染色した。サンプルを、共焦点レーザー走査顕微鏡(Carl Zeiss)下で調べた。

【0888】

(実施例4-1: E5胚由来のヒヨコ網膜ニューロンは、細胞質p21Cip1/WAF1発現を示す)

免疫組織化学を用いて、神経発生直後の網膜ニューロンが、深い層に移動することが見出された(図13A)。細胞中のp21Cip1/WAF1免疫反応性を、中枢神経網膜の硝子表面において、p21Cip1/WAF1に対するモノクローナル抗体を用いて検出した(図13A)。p21Cip1/WAF1ポジティブ細胞は、移動前の未成熟な網膜ニューロンであった。従って、p21Cip1/WAF1は、インビボにおいて網膜前駆体細胞の分化に関与することが示

唆される。

【0889】

次に、本発明者らは、p21Cip1/WAF1の細胞レベル下での局在をより正確に評価するために、E5網膜から神経前駆体細胞を単離した。ラミニン-1上で培養した分離網膜細胞は、神経突起を急速に伸長した(Frade, J. M. ら、Exp. Cell. Res. 222:140-149、1996b)。細胞を、1 μ M インスリンを含む化学的に規定された培地中で、ラミニン-1上で培養した。マイクロモル濃度の範囲で使用したインスリンは、おそらく、インスリン様増殖因子-Iレセプターに対して作用し、ゆえに、E5網膜細胞上でインスリン様増殖因子-Iの分化効果を模倣する(Frade, J. M. ら、Development. 122:2497-2506、1996a)。 β -チューブリンに対する免疫反応性を欠く未成熟細胞のほぼ全てにおいて、p21Cip1/WAF1の発現は、核の中で優先的に見出された(図13B)。核中のp21Cip1/WAF1は、これらの細胞中の細胞周期における変化に寄与し得る。一方、ニューロン特異的 β -チューブリンに対する免疫反応性を有する、相対的に長い神経突起を有するほとんどのニューロンにおいて、p21Cip1/WAF1は、主に細胞質に局在した(図13B)。これらの知見は、p21Cip1/WAF1の細胞質発現が、新生ニューロン中で誘導されることを示唆する。

【0890】

(実施例4-2:N1E-115細胞のインビトロ分化は、細胞質におけるp21Cip1/WAF1発現と関連する)

本発明者らは次に、ニューロン分化がp21Cip1/WAF1の細胞質発現と関連するか否かを調べるために、神経芽細胞であるN1E-115細胞を使用した。DMSOによって分化が誘導されるN1E-115細胞を、抗p21Cip1/WAF1抗体を用いて免疫染色した。DMSO処理の24時間後、p21Cip1/WAF1は、核に誘導された(図14B)。しかし、4日後(この時点で、過剰な神経突起生成が十分に明らかであった)、p21Cip1/WAF1は、細胞質に主に局在した(図14C)。この点に関して、p21Cip1/

WAF1の分化関連細胞質発現は、ヒヨコ網膜前駆体細胞に限定されない。

【0891】

(実施例4-3: p21Cip1/WAF1の異所性発現は、N1E-115細胞の形態に影響を与える)

p21Cip1/WAF1を細胞質で発現する細胞が長い神経突起を伸長し、そして細胞質p21Cip1/WAF1を欠く細胞が長い神経突起を伸長しなかったので(図13および14)、本発明者らは、細胞質p21Cip1/WAF1が神経突起伸長と関連するという仮説をたてた。従って、本発明者らは次に、細胞質へのp21Cip1/WAF1の再局在が神経突起の伸長を誘発するか否かを調べた。この問題に取り組むために、核局在シグナルを欠くp21Cip1/WAF1(Δ NLS-p21; aa 1~140)の哺乳動物発現ベクターならびに全長p21Cip1/WAF1(full-p21; aa 1~164)の哺乳動物発現ベクターを作製した(Asada, M. ら, EMBO J. 18: 1223-1234, 1999)。 Δ NLS-p21またはGFPでトランスフェクトした細胞は、トランスフェクションの48時間後まで増殖した(図15A)が、full-p21を用いた細胞は、増殖を停止した。full-p21を用いてトランスフェクトした細胞またはDMSO処理した細胞において、サイクリンD3のタンパク質(Kranenburg, O. ら, J. Cell. Biol. 131: 227-234, 1995)のレベルは、非常に増大し、一方、 Δ NLS-p21を用いた細胞において、発現の変化は見出されなかった(図15B)。さらに、不十分な(underphosphorylated)リン酸化状態のpRb(網膜芽細胞腫遺伝子産物)が、誘導され、そして過剰にリン酸化されたpRbが、DMSO処理によって検出不能になり、過剰にリン酸化されたpRbは、観察した期間の間、 Δ NLS-p21をトランスフェクトした細胞において優勢なままであった(図15B)。これらのデータは、U937細胞において示されたように(Asada, M. ら, EMBO J. 18: 1223-1234, 1999)、 Δ NLS-p21が、N1E-115細胞において分化誘導活性を有さないことを実証する。従って、これらのことから、本発明者らは、細胞に対する分化効果を考慮することなく、p21Cip1/WAF1の効果

を評価することができた。N1E-115細胞における Δ NLS-p21の発現レベルは、DMSO処理4日後の細胞中の内因性p21Cip1/WAF1の発現レベルと匹敵した(図15C)。N1E-115細胞を、これらの構築物を用いてトランスフェクトし、そして形態学的変化を、48時間後に評価した。全長p21Cip1/WAF1発現を伴う細胞は、GFP発現細胞またはトランスフェクションしていない細胞と比較して、いくらか平らかつ拡大された様子を示し、細胞の丸みが少なくなり(図15D)、一方で、長い神経突起を有する細胞集団は増加しなかった(図15E)。これらの変化は、核の中でp21Cip1/WAF1を発現するN1E-115細胞の分化によって引き起こされ得(Kranenburg, O. ら, J. Cell. Biol. 131:227-234, 1995)、本発明者らは、細胞をDMSO処理によって分化させた(Kimhi, Y. ら, Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 73:462-466, 1976)場合に、類似の表現型を観察した。全長p21Cip1/WAF1発現を伴う細胞は、4日後に長い神経突起を伸長し、この時点で、p21Cip1/WAF1に対するシグナルもまた、細胞質において見出された。一方、 Δ NLS-p21を用いてトランスフェクトされた細胞の45%より多くが、長い神経突起を伸長した(コントロールと比較して、3.1倍の増加;図15E)。これらの結果は、細胞質p21Cip1/WAF1がN1E-115細胞において神経突起のリモデリングを調節することを示唆する。

【0892】

(実施例4-4:細胞骨格機構に対する、細胞質p21Cip1/WAF1の効果)

RhoAのドミナントネガティブ変異体またはp160ROCK(Rhoキナーゼのアイソフォーム)の過剰発現は、N1E-115細胞の細胞の丸まりを誘導した(Hirose, M. ら, J. Cell. Biol. 141:1625-1636, 1998)が、p160ROCKのドミナントネガティブ変異体の発現またはY-27632(Rhoキナーゼの特定の阻害活性を有する化合物(Uehata, M. ら, Nature 389:990-994, 1997)での処理(図15E)は、有意な神経突起形成を誘導した(Hirose, M. ら,

J. Cell Biol. 141:1625-1636, 1998)。N1E-115細胞における本発明者らの知見は、これらの以前の報告と組合わせて、細胞質p21Cip1/WAF1の神経突起促進活性が、Rho/Rhoキナーゼと関連し得ることを示唆する。従って、本発明者らは、p21Cip1/WAF1がRhoによって媒介されるアクチン細胞骨格を調節するか否かを調べるために、NIH3T3細胞を次に使用した。NIH3T3細胞を、 Δ NLS-p21でトランスフェクトし、次いで、16時間血清を飢餓させる。血清を用いた10分間のインキュベーションによって、アクチン張線維の形成が、好ましくはRhoの活性化を通して誘導された(Ridley, A. J. およびA. Hall, Cell 70:389-399, 1992)。しかし、 Δ NLS-p21でトランスフェクトされたNIH3T3細胞は、血清添加後にほとんど張線維を形成せず、一方、顕著な張線維が非トランスフェクト細胞中で見出された(図16、AおよびB)。広範囲なアクチン張線維が、全長p21Cip1/WAF1発現を用いた細胞中で観察された。これらの結果は、NIH3T3細胞におけるRho誘導性アクチン再編成が、p21Cip1/WAF1の細胞質発現によってブロックされ得ることを示唆する。

【0893】

(実施例4-5: p21Cip1/WAF1は、細胞質においてRhoキナーゼに結合する)

Rhoキナーゼは、線維芽細胞においてmDia1と共に作用して、Rho誘導性表現型を誘発することが示された(Watanabe, N. ら, Nat. Cell Biol. 1:136-143, 1999)。血清は、Rhoの最も強力なアクチベーターのうちの1つであるので(Ridley, A. J. およびA. Hall, Cell 70:389-399, 1992)、血清刺激細胞における細胞質p21Cip1/WAF1の発現による張線維形成の損失は、Rhoの下流経路の妨害から生じ得る。 Δ NLS-p21の発現によるN1E-115細胞の形態学的変化は、Y-27632によるものと匹敵した(図15E)。p21Cip1/WAF1が、アポトーシスシグナル調節キナーゼ1の活性(Asada, M. ら, EMBO J. 18:1223-1234, 1999)および

セリントレオニンキナーゼであるサイクリン-Cdkキナーゼの活性（総説に関して、Pines, J., Biochem. J. 308:697-711, 1995を参照のこと）を阻害することを考慮して、本発明者らは、p21Cip1/WAF1がRhoキナーゼ（これはまた、セリントレオニンキナーゼでもある）の活性を阻害し得ると推測した。細胞質p21Cip1/WAF1が、細胞質中でRhoキナーゼと複合体を形成する可能性を試験するために、同時免疫沈降研究を、GFP-ΔNLS-p21およびmycタグ化Rhoキナーゼで同時トランスフェクトをした293T細胞を用いて実行した。細胞質発現は、GFP-ΔNLS-p21を用いてトランスフェクトした293T細胞中で十分に明らかであった（図17A）。溶解物を、抗p21Cip1/WAF1抗体を用いて免疫沈降した場合、p21Cip1/WAF1は、mycタグ化Rhoキナーゼを効率的に沈降した（図17B）。次いで、ΔNLS-p21とRhoキナーゼとの相互作用がその細胞局在に依存するか否かを試験する試みにおいて、本発明者らは、RhoキナーゼとGFP-full-p21（これは、核に優先的に発現する）との相互作用を試験した（図17A）。293T細胞におけるp21Cip1/WAF1の全長形態と短縮形態との比較可能な発現にも関わらず、ΔNLS-p21と対照的に、かすかなシグナルのみが検出され得た（図17B）。

【0894】

人工的に過剰発現するタンパク質の相互作用を天然の細胞中で検出することは困難であり得る。抗p21抗体を用いて、本発明者らは、分化N1E-115細胞から調製した溶解物を用いて、内因性タンパク質の相互作用を調べた。N1E-115細胞は、DMSOでの処理後3日～4日で、細胞質中にp21Cip1/WAF1を発現した（図14）。p21免疫沈降物において、抗Rhoキナーゼ抗体によって、Rhoキナーゼに対応するタンパク質の存在が明らかになった（図17C）。

【0895】

全長p21とRhoキナーゼとの相互作用の欠如は、細胞中の局在化の差異に起因し得る。従って、本発明者らは、組換え全長p21Cip1/WAF1とRhoキナーゼとのインビトロ相互作用を試験した。これらのタンパク質は、イン

ビトロで互いに結合した(図17D)。本明細書中に使用されるRhoキナーゼのフラグメントに対する融合されたGST (GAT-CAT; aa 6~553)は、Rhoキナーゼの触媒領域に対応するので、p21Cip1/WAF1は、Rhoキナーゼの触媒領域に直接結合し得る。これは、S6キナーゼ基質ペプチド(AKRRRLSSLRA)ならびにY-27632が、p21Cip1/WAF1とRhoキナーゼとの相互作用を用量依存的に阻害したという本明細書中にらの知見を実証する(図17D)。これらの結果は、p21Cip1/WAF1が細胞質においてRhoキナーゼと会合することを示唆する。

【0896】

(実施例4-6: p21Cip1/WAF1は、Rhoキナーゼ活性を阻害する)

本発明者らは次に、p21Cip1/WAF1がインビトロにおいてRhoキナーゼの活性を阻害し得るか否かを調べた。キナーゼアッセイは、S6キナーゼ基質ペプチドおよび $[\gamma\text{-}^{32}\text{P}]$ ATPを用いて実行した。シンチレーションカウンタを使用することによって、ホスホセルロースペーパー上の ^{32}P -標識基質ペプチドの量を、決定した。この動的分析によって、p21Cip1/WAF1が、用量依存様式でS6キナーゼ基質ペプチドに対するRhoキナーゼ活性を阻害することが明らかとなり(図18A)、そしてIC₅₀値は、1.43 nMと概算された。

【0897】

これらの結果に基づき、Rhoキナーゼ活性が、インビボにおいて $\Delta\text{NLS-p}21$ の発現によって阻害されるか否かを本発明者らは調べた。293T細胞を、 $\Delta\text{NLS-p}21$ の存在下または非存在下でmyc-Rhoキナーゼを用いてトランスフェクトした。キナーゼアッセイは、インビトロアッセイと同じ方法で細胞由来の溶解物を用いて実行した。その結果によって、Rhoキナーゼ活性は、コントロールと比較して、 $\Delta\text{NLS-p}21$ を発現する細胞において阻害されてもとの平均48.1%となったことが示された(図18B)。この阻害効果は、Y-27632の効果(阻害されてもとの平均51.9%になった)に匹敵するが、全長p21Cip1/WAF1の発現は、有意な効果を有さなかった。本

発明者らのデータは、R h o キナーゼ活性が、インビボおよびインビトロにおいて p 2 1 C i p 1 / W A F 1 によって阻害されることを明確に実証する。

【0898】

(実施例 4-7: 細胞質 p 2 1 C i p 1 / W A F 1 は、海馬ニューロンにおいて神経突起の伸展および分枝を促進する)

細胞質 p 2 1 C i p 1 / W A F 1 が R h o キナーゼに対して作用するという本発明者らの知見の妥当性を調べるために、本発明者らは、ニューロンに対する効果を評価した。ラット E 1 8 胚由来の海馬ニューロンの培養物を使用した。このニューロンは抗 p 2 1 C i p 1 / W A F 1 抗体を用いた免疫細胞化学によって検出されるに十分な内因性 p 2 1 C i p 1 / W A F 1 を発現しなかったため、本発明者らはこのニューロンを選択した。分離した海馬ニューロンを、48時間インキュベートし、そして Δ NLS-p 2 1 を用いてトランスフェクトした。トランスフェクションの24時間後、細胞を固定し、 β -チューブリン III を用いて免疫標識した。1ニューロンあたりの総神経突起長、軸索長 (1ニューロンあたりの最も長い神経突起の長さとして規定)、ニューロン体に由来する一次突起物の数、および1ニューロンあたりの分枝点の数を決定した (Neumann, H. ら, J. Neurosci. 22: 854-862, 2002)。 Δ NLS-p 2 1 を発現する細胞のニューロン形態は、トランスフェクションしていないコントロール細胞または GFP を発現するコントロール細胞とは明らかに異なった (図 19 A)。 Δ NLS-p 2 1 発現を伴う細胞は、コントロール細胞 (GFP を発現する細胞、またはトランスフェクションしていない細胞) よりも、より長い神経突起を伸長し、そしてより多くの分枝点を有した。 Δ NLS-p 2 1 の異所性発現は、ニューロンあたりの総神経突起長を $135.9 \mu\text{m}$ ($\pm 7.2 \mu\text{m}$ SEM) から $307.2 \mu\text{m}$ ($\pm 34.0 \mu\text{m}$ SEM) に増大し、軸索長を $66.3 \mu\text{m}$ ($\pm 3.2 \mu\text{m}$ SEM) から $162.9 \mu\text{m}$ ($\pm 18.6 \mu\text{m}$ SEM) に増大し、1ニューロンあたりの分枝点の数を 1.3 (± 0.2 SEM) から 2.6 (± 0.3 SEM) に増大した。しかし、一次突起物の数における変化は、細胞質 p 2 1 C i p 1 / W A F 1 の過剰発現によって見出されなかった (図 19 B)。これらの結果は、細胞質 p 2 1 C i p 1 / W A F 1 が、胚

性海馬ニューロン中で神経突起リモデリングを調節することを示す。

【0899】

(実施例 4-8: TAT 結合 p21 の効果)

p21 を、200g の雄性 Wistar 系ラットを用いて、神経再生実験を行ったところ、その効果が十分に見られなかった。

【0900】

そこで、本発明者らは、p21 に TAT PTD ドメインを結合させた分子を作製し、その効果を調べた。

【0901】

まず、p21 をコードする核酸配列に、GST をコードする核酸配列およびヒト免疫不全ウイルスタンパク質からのアミノ末端 11 アミノ酸タンパク質導入ドメイン (YGRKKRRQRRR) (配列番号 20) をコードする核酸配列および myc をコードする配列を融合させたものを作製した (図 20)。また、コントロールとして、p21 コード配列のないものを作製した (図 20)。これを定法によりポリペプチドを発現させ、脊髄損傷後の機能回復に作用するかどうかを調べた。

【0902】

200g の雄性 Wistar 系ラットの第 9 胸椎の椎弓切除を行った後、脊髄の背側半分を切断した。持続浸透圧ポンプを用いて損傷部位へ上記 TAT 結合 p21 およびコントロールタンパク質の持続的な投与を 2 週間行った。このときに、ポンプに接続したチューブの先端を髄腔内に留置した。

【0903】

脊髄損傷後の機能回復として、BBB スコア (Basso-Beattie-Bresnahan (BBB) Locomotor Rating; Basso DM, Beattie MS, Bresnahan JC, J Neurotrauma 12 (1): 1-21 (1995)) を使用し、損傷後の 2 日から 6 週間にわたって観察を行った。その結果を図 21 に示す。

【0904】

図 21 に示すように、TAT 結合 p21 ポリペプチドを投与した群では、顕著

な脊髄機能の回復が見られたの対して、コントロール群ではそのような回復はほとんど見られない。したがって、本発明の TAT 結合 p 21 は、実際の神経系の再生を促進し、しかも機能回復ももたらすことが明らかになった。

【0905】

また、p 21 において TAT PTD ドメインが作用することが明らかになったことから、このように、TAT PTD ドメインは、神経再生のための組成物を、実際に作用させるために顕著な効果を示すことが明らかになった。

【0906】

(実施例 4-9: 他の Rho キナーゼ阻害剤)

実施例の実験を、Rho キナーゼに対して特異的に相互作用する因子としての阻害剤を用いた場合でも同様にインビトロで神経突起が伸長することが観察され、かつ、インビボで神経が再生することが観察された。

【0907】

以上のように、本発明の好ましい実施形態を用いて本発明を例示してきたが、本発明は、特許請求の範囲によってのみその範囲が解釈されるべきであることが理解される。本明細書において引用した特許、特許出願および文献は、その内容自体が具体的に本明細書に記載されているのと同様にその内容が本明細書に対する参考として援用されるべきであることが理解される。

【0908】

【発明の効果】

神経突起伸展の阻害に関連する p 75 NTR とその相互作用因子との関係を明らかにすることによって、神経の再生およびその神経の再生に基づいて神経学的疾患を処置するための薬学的組成物および方法が提供される。

【0909】

(配列表の説明)

配列番号 1: Pep 5 ポリペプチドの核酸配列

配列番号 1 は、配列番号 2 で示す Pep ポリペプチドの縮重核酸配列である。

Pep 5 AA Sequence

C F F R G G F F N H N P R Y C

Cys Phe Phe Arg Gly Gly Phe Phe Asn His Asn Pro Arg Tyr Cys
 tgy tty tty mgn ggn ggn tty tty aay cay aay ccn mgn tay tgy
 tgt ttt cgtggt aatcat cct tat
 tgc ttc cgcggc aaccac ccc tac
 cgagga cca
 cggggg ccg
 aga
 agg

配列番号 1 : p e p 5 縮重 DNA

tgyttyttymngngngnttyttaaycayaayccnmgntaytgy

配列番号 2 : P e p 5 ポリペプチドのアミノ酸配列

配列番号 3 : ヒト p 7 5 ポリペプチドの核酸配列

配列番号 4 : ヒト p 7 5 ポリペプチドのアミノ酸配列

配列番号 5 : ヒト R h o G D I ポリペプチドの核酸配列

配列番号 6 : ヒト R h o G D I ポリペプチドのアミノ酸配列

配列番号 7 : M A G ポリペプチドの核酸配列

配列番号 8 : M A G ポリペプチドのアミノ酸配列

配列番号 9 : N o g o ポリペプチドの核酸配列

配列番号 10 : N o g o ポリペプチドのアミノ酸配列

配列番号 11 : R h o A ポリペプチドの核酸配列

配列番号 12 : R h o A ポリペプチドのアミノ酸配列

配列番号 13 : p 2 1 ポリペプチドの核酸配列

配列番号 14 : p 2 1 ポリペプチドのアミノ酸配列

配列番号 15 : 実施例において使用されるコントロールペプチド

配列番号 16 : ラット p 7 5 ポリペプチドの核酸配列

配列番号 17 : ラット p 7 5 ポリペプチドのアミノ酸配列

配列番号 18 : ヒト R h o キナーゼポリペプチドの核酸配列

配列番号 19: ヒト Rho キナーゼポリペプチドのアミノ酸配列

配列番号 20: TAT PTDドメインのアミノ酸配列

配列番号 21: HIV TATの核酸配列

配列番号 22: 実施例で使用した p 21 ポリペプチドの核酸配列

配列番号 23: 実施例で使用した p 21 ポリペプチドのアミノ酸配列

配列番号 24: ADB 基質ペプチド

配列番号 25: HIV TATの全長アミノ酸配列

【0910】

【配列表】

SEQUENCE LISTING

<110> Trans-Science, Inc.

<120> COMPOSITION AND METHOD FOR NERVE REGENERATION

<130> J1-03519094

<140> not yet assigned

<141> not yet assigned

<150> JP 2003-92923

<151> 2003-3-28

<160> 25

<170> PatentIn version 3.1

<210> 1

<211> 45

<212> DNA

<213> Artificial

<220>

<223> Synthetic Degenerate Sequence

<220>

<221> misc_feature

<222> (12)..(12)

<223> "n" is A , C, G or T.

<220>

<221> misc_feature

<222> (15)..(15)

<223> "n" is A , C, G or T.

<220>

<221> misc_feature

<222> (18)..(18)

<223> "n" is A , C, G or T.

<220>

<221> misc_feature

<222> (36)..(36)

<223> "n" is A , C, G or T.

<220>

<221> misc_feature

<222> (39)..(39)

<223> "n" is A , C, G or T.

<400> 1

tgyttyttym gnggnggntt yttyaaycay aayccnmgt aytgy

45

<210> 2

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> Synthetic Sequence

<400> 2

Cys Phe Phe Arg Gly Gly Phe Phe Asn His Asn Pro Arg Tyr Cys

1

5

10

15

<210> 3

<211> 3386

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 3

gccgcggcca gctccggcgg gcaggggggg cgctggagcg cagcgcagcg cagcccatc 60

agtccgcaaa gcggaccgag ctggaagtcg agcgctgccg cgggaggcgg gcgatggggg 120

caggtgccac cggccgcgcc atggacgggc cgcgcctgct gctgttgctg cttctggggg 180

tgtcccttgg aggtgccaag gaggcattgcc ccacaggcct gtacacacac agcggtgagt 240

gctgcaaagc ctgcaacctg ggcgagggtg tggcccagcc ttgtggagcc aaccagaccg 300

tgtgtgagcc ctgcctggac agcgtgacgt tctccgacgt ggtgagcgcg accgagccgt 360

gcaagccgtg caccgagtgc gtggggctcc agagcatgtc ggccgctgc gtggaggccg 420

acgagccgtg gtgccgtgc gcctacggct actaccagga tgagacgact gggcgctgcg 480

aggcgtgccg cgtgtgcgag gcgggctcgg gcctcgtgtt ctctgccag gacaagcaga 540

acaccgtgtg cgaggagtgc cccgacggca cgtattccga cgaggccaac cacgtggacc 600

cgtgcctgcc ctgcaccgtg tgcgaggaca ccgagcgcca gctccgcgag tgcacacgt 660

gggccgacgc cgagtgcgag gagatccctg gccgttggat tacacggtcc acacccccag 720

agggctcgga cagcacagcc cccagcacc aggagcctga ggcacctcca gaacaagacc 780

tcatagccag cacggtggca ggtgtggtga ccacagtgat gggcagctcc cagcccgtgg 840

tgacccgagg caccaccgac aacctcatcc ctgtctattg ctccatcctg gctgctgtgg 900

ttgtgggcct tgtggcctac atagccttca agaggtggaa cagctgcaag cagaacaagc 960

aaggagccaa cagccggcca gtgaaccaga cgccccacc agagggagaa aaactccaca 1020

gcgacagtgg catctccgtg gacagccaga gcctgcatga ccagcagccc cacacgcaga 1080

cagcctcggg ccaggccctc aagggtgacg gaggcctcta cagcagcctg cccccagcca 1140

agcgggagga ggtggagaag ctctcaacg gctctgcggg ggacacctgg cggcacctgg 1200

cgggcgagct gggctaccag cccgagcaca tagactcctt taccatgag gcctgccccg 1260

ttcgccct gcttgcaagc tgggccacc aggacagcg cacactggac gccctcctgg 1320

ccgccctgcg ccgcatccag cgagccgacc tcgtggagag tctgtgcagt gagtccactg 1380

ccacatcccc ggtgtgagcc caaccgggga gccccgccc cgccccacat tccgacaacc 1440

gatgctccag ccaaccctg tggagccgc accccaccc tttggggggg gccgcctgg 1500

cagaactgag ctctctggg caggacctca gagtccaggc cccaaaacca cagccctgtc 1560

agtgcagccc gtgtggcccc ttcacttctg accacacttc ctgtccagag agagaagtgc 1620

ccctgtgcc tcccaaccc tgcccctgcc ccgtcaccat ctcaggccac ctgccccctt 1680

ctccacact gctaggtggg ccagccctc ccaccacagc aggtgtcata tatggggggc 1740
caacaccagg gatggtacta gggggaagtg acaaggcccc agagactcag agggaggaat 1800
cgaggaacca gagccatgga ctctacactg tgaacttggg gaacaagggt ggcatcccag 1860
tggcctcaac cctccctcag cccctcttgc cccccaccc agcctaagat gaagaggatc 1920
ggaggcttgt cagagctggg aggggttttc gaagctcagc ccacccccct cattttggat 1980
ataggtcagt gaggcccagg gagaggccat gattcgccca aagccagaca gcaacgggga 2040
ggccaagtgc aggctggcac cgccttctct aatgagggg cctcaggttt gcctgagggc 2100
gaggggaggg tggcaggtga ctttctggga aatggcttga agccaagtca gctttgcctt 2160
ccacgtgtc tccagacccc cacccttcc cactgcctg cccacccgtg gagatgggat 2220
gcttgcctag ggcctgttcc atgatggagt caggtttggg gttcgtggaa aggggtctgc 2280
ttccctctgc ctgtccctct caggcatgcc tgtgtgacat cagtggcatg gctccagtct 2340
gctgccctcc atcccgacat ggaccggag ctaacactgg cccctagaat cagcctaggg 2400
gtcagggacc aaggaccctt caccttgcaa cacacagaca cacgcacaca cacacacagg 2460
aggagaaatc tcacttttct ccatgagttt tttctcttgg gctgagactg gatactgccc 2520
ggggcagctg ccagagaagc atcggaggga attgaggtct gctcggccgt cttcactcgc 2580

ccccgggttt ggcgggccaa ggactgccga ccgaggctgg agctggcgtc tgtcttcaag 2640
ggcttacacg tggaggaatg ctccccatc ctcccctcc ctgcaaacat ggggttggct 2700
gggccagaa ggttgcgatg aagaaaagcg ggccagtgtg ggaatgcggc aagaaggaat 2760
tgacttcgac tgtgacctgt ggggatttct ccagctcta gacaaccctg caaaggactg 2820
tttttctg agcttggcca gaagggggcc atgaggcctc agtggacttt ccacccctc 2880
cctggcctgt tctgttttgc ctgaagtgg agtgagtgtg gctcccctct atttagcatg 2940
acaagcccca ggcaggctgt gcgctgacaa ccaccgtcc ccagcccagg gttccccag 3000
ccctgtggaa gggactagga gcactgtagt aaatggcaat tctttgacct caacctgtga 3060
tgaggggagg aaactcacct gctggcccct cacctgggca cctggggagt gggacagagt 3120
ctgggtgtat ttattttcct cccagcagg tggggagggg gtttggtggc ttgcaagtat 3180
gttttagcat gtgtttggtt ctggggcccc tttttactcc ccttgagctg agatggaacc 3240
citttggccc ccagctgggg gccatgagct ccagaccccc agcaaccctc ctatcacctc 3300
ccctccttgc ctctgtgta atcatttctt gggccctcct gaaacttaca cacaaaacgt 3360
taagtgatga acattaaata gcaaag 3386

<210> 4

<211> 427

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 4

Met Gly Ala Gly Ala Thr Gly Arg Ala Met Asp Gly Pro Arg Leu Leu
1 5 10 15

Leu Leu Leu Leu Leu Gly Val Ser Leu Gly Gly Ala Lys Glu Ala Cys
 20 25 30

Pro Thr Gly Leu Tyr Thr His Ser Gly Glu Cys Cys Lys Ala Cys Asn
 35 40 45

Leu Gly Glu Gly Val Ala Gln Pro Cys Gly Ala Asn Gln Thr Val Cys
 50 55 60

Glu Pro Cys Leu Asp Ser Val Thr Phe Ser Asp Val Val Ser Ala Thr
65 70 75 80

Glu Pro Cys Lys Pro Cys Thr Glu Cys Val Gly Leu Gln Ser Met Ser

85

90

95

Ala Pro Cys Val Glu Ala Asp Asp Ala Val Cys Arg Cys Ala Tyr Gly

100

105

110

Tyr Tyr Gln Asp Glu Thr Thr Gly Arg Cys Glu Ala Cys Arg Val Cys

115

120

125

Glu Ala Gly Ser Gly Leu Val Phe Ser Cys Gln Asp Lys Gln Asn Thr

130

135

140

Val Cys Glu Glu Cys Pro Asp Gly Thr Tyr Ser Asp Glu Ala Asn His

145

150

155

160

Val Asp Pro Cys Leu Pro Cys Thr Val Cys Glu Asp Thr Glu Arg Gln

165

170

175

Leu Arg Glu Cys Thr Arg Trp Ala Asp Ala Glu Cys Glu Glu Ile Pro

180

185

190

Gly Arg Trp Ile Thr Arg Ser Thr Pro Pro Glu Gly Ser Asp Ser Thr

195

200

205

Ala Pro Ser Thr Gln Glu Pro Glu Ala Pro Pro Glu Gln Asp Leu Ile
210 215 220

Ala Ser Thr Val Ala Gly Val Val Thr Thr Val Met Gly Ser Ser Gln
225 230 235 240

Pro Val Val Thr Arg Gly Thr Thr Asp Asn Leu Ile Pro Val Tyr Cys
245 250 255

Ser Ile Leu Ala Ala Val Val Val Gly Leu Val Ala Tyr Ile Ala Phe
260 265 270

Lys Arg Trp Asn Ser Cys Lys Gln Asn Lys Gln Gly Ala Asn Ser Arg
275 280 285

Pro Val Asn Gln Thr Pro Pro Pro Glu Gly Glu Lys Leu His Ser Asp
290 295 300

Ser Gly Ile Ser Val Asp Ser Gln Ser Leu His Asp Gln Gln Pro His
305 310 315 320

Thr Gln Thr Ala Ser Gly Gln Ala Leu Lys Gly Asp Gly Gly Leu Tyr
325 330 335

Ser Ser Leu Pro Pro Ala Lys Arg Glu Glu Val Glu Lys Leu Leu Asn
340 345 350

Gly Ser Ala Gly Asp Thr Trp Arg His Leu Ala Gly Glu Leu Gly Tyr
355 360 365

Gln Pro Glu His Ile Asp Ser Phe Thr His Glu Ala Cys Pro Val Arg
370 375 380

Ala Leu Leu Ala Ser Trp Ala Thr Gln Asp Ser Ala Thr Leu Asp Ala
385 390 395 400

Leu Leu Ala Ala Leu Arg Arg Ile Gln Arg Ala Asp Leu Val Glu Ser
405 410 415

Leu Cys Ser Glu Ser Thr Ala Thr Ser Pro Val
420 425

<210> 5

<211> 1921

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 5

ggcacgaggg ggcggccgac gacgttcgtc atttagtgcg ggagggatcc tgaaccgcgc 60

ggccgaaccc tccggtgtcc cgacccaggc taagcttgag catggctgag caggagccca 120

cagccgagca gctggcccag attgcagcgg agaacgagga ggatgagcac tcggtcaact 180

acaagccccc ggcccagaag agcatccagg agatccagga gctggacaag gacgacgaga 240

gcctgcgaaa gtacaaggag gccctgctgg gccgcgtggc cgtttccgca gaccccaacg 300

tccccaacgt cgtggtgact ggcctgacct tgggtgtgcag ctgggccccg ggccccctgg 360

agctggacct gacgggacgac ctggagagct tcaagaagca gtcgtttgtg ctgaaggagg 420

gtgtggagta ccggataaaa atctctttcc ggggttaaccg agagatagtg tccggcatga 480

agtacatcca gcatacgtac aggaaaggcg tcaagattga caagactgac tacatggtag 540

gcagctatgg gccccgggcc gaggagtacg agttcctgac ccccgaggag gaggcaccca 600

agggtatgct ggccccgggc agctacagca tcaagtcccg cttcacagac gacgacaaga 660

ccgaccacct gtcctgggag tggaatctca ccatcaagaa ggactggaag gactgagccc 720

agccagaggc gggcagggca gactgacgga cggacgacgg acaggcggat gtgtccccc 780
cagcccctcc cctccccata ccaaagtgt gacaggccct ccgtgccctt cccaccctgg 840
tccgctccc tggcctggct caaccgagt cctccgacct ccctcctcag ccctcccca 900
cccacaggcc cagcctcctc ggtctcctgt ctcgttgctg cttctgcctg tgctgtgggg 960
gagagaggcc gcagccaggc ctctgtgcc ctttctgtgc ccccaggtt ctatctcccc 1020
gtcacacccg aggccctggct tcaggaggga gcggagcagc cattctccag gccccgtggt 1080
tgcccctgga cgtgtgcgtc tgctgtccg ggggtggagct ggggtgtggg atgcacggcc 1140
tcgtgggggc cgggccgtcc tccagccccg ctgctccctg gccagcccc ttgtcgtgt 1200
cggctccgctc taaccatgat gccttaacat gtggagtgtc ccgtggggcc tactagcct 1260
ctaactcct gtgtctgcat gagcatgtgg cctccccgtc cttccccgg tggcgaacct 1320
agtgaccag ggacacgtgg ggtgtgctgc tgctgtccc cagcccacca gtgcctggcc 1380
agcctgcccc cttccctgga cagggtgtg gagatggctc cggcggcttg gggaaagcca 1440
aattgcaaaa actcaagtca cctcagtacc atccaggagg ctgggtattg tcctgcctct 1500
gccttttctg tctcagcggg cagtgccag agccacacc ccccaagag ccctcgatgg 1560

acagcctcac ccaccccacc tgggcccagc caggagcccc gcctggccat cagtatttat 1620

tgctccgtc cgtgccgtcc ctgggccact ggctggcgc ctgtccccc aggctctcag 1680

tgccaccacc cccggcaggc ctccctgac ccagccagga acaacaagg gaccaagtgc 1740

acacattgct gagagccgtc tcctgtgcct ccccgcccc atccccggc ttcgtgttgt 1800

gtctgccagg ctcaggcaga ggcgccgtc cctgcttctt ttctgaccgg gaaataaatg 1860

cccctgaagg aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 1920

a 1921

<210> 6

<211> 204

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 6

Met Ala Glu Gln Glu Pro Thr Ala Glu Gln Leu Ala Gln Ile Ala Ala

1

5

10

15

Glu Asn Glu Glu Asp Glu His Ser Val Asn Tyr Lys Pro Pro Ala Gln

20

25

30

Lys Ser Ile Gln Glu Ile Gln Glu Leu Asp Lys Asp Asp Glu Ser Leu
35 40 45

Arg Lys Tyr Lys Glu Ala Leu Leu Gly Arg Val Ala Val Ser Ala Asp
50 55 60

Pro Asn Val Pro Asn Val Val Val Thr Gly Leu Thr Leu Val Cys Ser
65 70 75 80

Ser Ala Pro Gly Pro Leu Glu Leu Asp Leu Thr Gly Asp Leu Glu Ser
85 90 95

Phe Lys Lys Gln Ser Phe Val Leu Lys Glu Gly Val Glu Tyr Arg Ile
100 105 110

Lys Ile Ser Phe Arg Val Asn Arg Glu Ile Val Ser Gly Met Lys Tyr
115 120 125

Ile Gln His Thr Tyr Arg Lys Gly Val Lys Ile Asp Lys Thr Asp Tyr
130 135 140

Met Val Gly Ser Tyr Gly Pro Arg Ala Glu Glu Tyr Glu Phe Leu Thr
 145 150 155 160

Pro Val Glu Glu Ala Pro Lys Gly Met Leu Ala Arg Gly Ser Tyr Ser
 165 170 175

Ile Lys Ser Arg Phe Thr Asp Asp Asp Lys Thr Asp His Leu Ser Trp
 180 185 190

Glu Trp Asn Leu Thr Ile Lys Lys Asp Trp Lys Asp
 195 200

<210> 7

<211> 2475

<212> DNA

<213> Rattus norvegicus

<400> 7

cagaagccag accatccaac cttctgtatc agtgctcctc gtcgcctcac tgtacttcac 60

ggaagagact tggttgactg gccacttgga gcggaatcag gagacattcc caactcaggg 120

agactgaggt gagggcccta gtcgcccac ttgctggaca agatgatatt cttaccacc 180

ctgcctctgt tttggataat gatttcagct tctcgagggg ggactgggg tgcctggatg 240

ccctcgtcca tctcagcctt cgagggcacg tgtgtctcca tcccctgccg tttcgacttc 300

ccggatgagc tcagaccggc tgttggtacat ggcgtctggt atttcaacag tccctacccc 360

aagaactacc cgccagtggc cttcaagtcc cgacacaaag tgggtccacga gagcttccag 420

ggccgtagcc gcctgttggg agacctgggc ctacgaaact gcaccctgct tctcagcacg 480

ctgagccctg agctgggagg gaaatactat ttccgaggtg acctgggcgg ctacaaccag 540

tacaccttct cggagcacag cgtcctggac atcatcaaca cccccaacat cgtggtgccc 600

ccagaagtgg tggcaggaac ggaagtagag gtcagctgca tgggtgccga caactgccc 660

gagctgcgcc ctgagctgag ctggctgggc cacgaggggc taggggagcc cactgttctg 720

ggtcggctgc gggaggatga aggcacctgg gtgcaggtgt cactgctaca cttcgtgcct 780

actagagagg ccaacggcca ccgtctgggc tgtcaggctg ccttccccaa caccacctg 840

...

cagttcgagg gttacgccag tctggacgtc aagtacccc cggtgattgt ggagatgaat 900

tcctctgtgg aggccattga gggctcccat gtcagcctgc tctgtggggc tgacagcaac 960

ccgccaccgc tgctgacttg gatgcgggat gggatggtgt tgagggaggc agttgctgag 1020

agcctgtacc tggatctgga ggaggtgacc ccagcagagg acggcatcta tgcttgccctg 1080

gcagagaatg cctatggcca ggacaaccgc acggtggagc tgagcgtcat gtatgcacct 1140

tggaagccca cagtgaatgg gacggtggtg gcggtagagg gggagacagt ctccatcctg 1200

tgttccacac agagcaaccc ggaccctatt ctcaccatct tcaaggagaa gcagatcctg 1260

gccacggtca tctatgagag tcagctgcag ctggaactcc ctgcagtgc gcccaggagc 1320

gatggggagt actggtgtgt agctgagaac cagtatggcc agagagccac cgccttcaac 1380

ctgtctgtgg agtttgcctc cataatcctt ctggaatcgc actgtgcagc ggccagagac 1440

accgtgcagt gcctgtgtgt ggtaaaatcc aaccggaac cctccgtggc ctttgagctg 1500

ccttcccgca acgtgactgt gaacgagaca gagagggagt ttgtgtactc agagcgcagc 1560

ggcctcctgc tcaccagcat cctcacgctc cggggtcagg cccaagcccc acccgcgctc 1620

atttgtacct ccaggaacct ctacggcacc cagagcctcg agctgccttt ccaggagca 1680

caccgactga tgtgggcca aatcggccct gtgggtgctg tggtcgcctt tgccatcctg 1740

attgccattg tctgctacat caccagaca agaagaaaaa agaacgtcac agagagcccc 1800

agcttctcag cgggagacaa ccctcatgtc ctgtacagcc ccgaattccg aatctctgga 1860

gcacctgata agtatgagag tgagaagcgc ctggggtccg agaggaggct gctgggcctt 1920

aggggggaac cccagaact ggacctcagt tattcccact cagacctggg gaaacgacc 1980
accaaggaca gctacaccct gacagaggag ctggctgagt acgcagaaat ccgagtcaag 2040
tgaggaagct gggggctggc cctgtggctc acccccatc aggaccctcg cttggccccc 2100
actggccgtg ggctcccttt ctcttgagag tggtaggggt gggggcggga aggggcgggg 2160
caggaaacag tgaggtctta ggggcccggc ctcccctcct tcccggtgc tcctctctgc 2220
caacatcctg cacctatggt acagctccct ctcccctcct tttaacctca gctgttgaga 2280
ggggtgctct gtctgtccat gttatttatt gttatcctgg tctcctgtcc ccttaccgg 2340
ccccaggacc tgtacaaaag ggacatgaaa taaatgtcct aatgacaagt gccagtctag 2400
accatcctt tggaggaaag gggcatatta gtaatacttt tctcgttgct gtaacaaaat 2460
actggacaaa aacac 2475

<210> 8

<211> 626

<212> PRT

<213> Rattus norvegicus

<400> 8

Met Ile Phe Leu Thr Thr Leu Pro Leu Phe Trp Ile Met Ile Ser Ala

1	5	10	15												
Ser	Arg	Gly	Gly	His	Trp	Gly	Ala	Trp	Met	Pro	Ser	Ser	Ile	Ser	Ala
		20					25						30		
Phe	Glu	Gly	Thr	Cys	Val	Ser	Ile	Pro	Cys	Arg	Phe	Asp	Phe	Pro	Asp
		35					40					45			
Glu	Leu	Arg	Pro	Ala	Val	Val	His	Gly	Val	Trp	Tyr	Phe	Asn	Ser	Pro
	50					55					60				
Tyr	Pro	Lys	Asn	Tyr	Pro	Pro	Val	Val	Phe	Lys	Ser	Arg	Thr	Gln	Val
65					70					75					80
Val	His	Glu	Ser	Phe	Gln	Gly	Arg	Ser	Arg	Leu	Leu	Gly	Asp	Leu	Gly
				85					90					95	
Leu	Arg	Asn	Cys	Thr	Leu	Leu	Leu	Ser	Thr	Leu	Ser	Pro	Glu	Leu	Gly
			100					105					110		
Gly	Lys	Tyr	Tyr	Phe	Arg	Gly	Asp	Leu	Gly	Gly	Tyr	Asn	Gln	Tyr	Thr
		115						120				125			

Phe Ser Glu His Ser Val Leu Asp Ile Ile Asn Thr Pro Asn Ile Val
130 135 140

Val Pro Pro Glu Val Val Ala Gly Thr Glu Val Glu Val Ser Cys Met
145 150 155 160

Val Pro Asp Asn Cys Pro Glu Leu Arg Pro Glu Leu Ser Trp Leu Gly
165 170 175

His Glu Gly Leu Gly Glu Pro Thr Val Leu Gly Arg Leu Arg Glu Asp
180 185 190

Glu Gly Thr Trp Val Gln Val Ser Leu Leu His Phe Val Pro Thr Arg
195 200 205

Glu Ala Asn Gly His Arg Leu Gly Cys Gln Ala Ala Phe Pro Asn Thr
210 215 220

Thr Leu Gln Phe Glu Gly Tyr Ala Ser Leu Asp Val Lys Tyr Pro Pro
225 230 235 240

Val Ile Val Glu Met Asn Ser Ser Val Glu Ala Ile Glu Gly Ser His
245 250 255

Val Ser Leu Leu Cys Gly Ala Asp Ser Asn Pro Pro Pro Leu Leu Thr
260 265 270

Trp Met Arg Asp Gly Met Val Leu Arg Glu Ala Val Ala Glu Ser Leu
275 280 285

Tyr Leu Asp Leu Glu Glu Val Thr Pro Ala Glu Asp Gly Ile Tyr Ala
290 295 300

Cys Leu Ala Glu Asn Ala Tyr Gly Gln Asp Asn Arg Thr Val Glu Leu
305 310 315 320

Ser Val Met Tyr Ala Pro Trp Lys Pro Thr Val Asn Gly Thr Val Val
325 330 335

Ala Val Glu Gly Glu Thr Val Ser Ile Leu Cys Ser Thr Gln Ser Asn
340 345 350

Pro Asp Pro Ile Leu Thr Ile Phe Lys Glu Lys Gln Ile Leu Ala Thr
355 360 365

Val Ile Tyr Glu Ser Gln Leu Gln Leu Glu Leu Pro Ala Val Thr Pro
370 375 380

Glu Asp Asp Gly Glu Tyr Trp Cys Val Ala Glu Asn Gln Tyr Gly Gln
385 390 395 400

Arg Ala Thr Ala Phe Asn Leu Ser Val Glu Phe Ala Pro Ile Ile Leu
405 410 415

Leu Glu Ser His Cys Ala Ala Ala Arg Asp Thr Val Gln Cys Leu Cys
420 425 430

Val Val Lys Ser Asn Pro Glu Pro Ser Val Ala Phe Glu Leu Pro Ser
435 440 445

Arg Asn Val Thr Val Asn Glu Thr Glu Arg Glu Phe Val Tyr Ser Glu
450 455 460

Arg Ser Gly Leu Leu Leu Thr Ser Ile Leu Thr Leu Arg Gly Gln Ala

465 470 475 480

Gln Ala Pro Pro Arg Val Ile Cys Thr Ser Arg Asn Leu Tyr Gly Thr
 485 490 495

Gln Ser Leu Glu Leu Pro Phe Gln Gly Ala His Arg Leu Met Trp Ala
 500 505 510

Lys Ile Gly Pro Val Gly Ala Val Val Ala Phe Ala Ile Leu Ile Ala
 515 520 525

Ile Val Cys Tyr Ile Thr Gln Thr Arg Arg Lys Lys Asn Val Thr Glu
 530 535 540

Ser Pro Ser Phe Ser Ala Gly Asp Asn Pro His Val Leu Tyr Ser Pro
545 550 555 560

Glu Phe Arg Ile Ser Gly Ala Pro Asp Lys Tyr Glu Ser Glu Lys Arg
 565 570 575

Leu Gly Ser Glu Arg Arg Leu Leu Gly Leu Arg Gly Glu Pro Pro Glu
 580 585 590

Leu Asp Leu Ser Tyr Ser His Ser Asp Leu Gly Lys Arg Pro Thr Lys
 595 600 605

Asp Ser Tyr Thr Leu Thr Glu Glu Leu Ala Glu Tyr Ala Glu Ile Arg
 610 615 620

Val Lys
 625

<210> 9
 <211> 60615
 <212> DNA
 <213> Mus musculus

<400> 9
 aaaaagcagc tagacctgga ggagacatcc ctgggagggg ctcccaggcc aacagccaga 60
 caaacattca gaatttttgg tgggtaggtc cagtgttttc acagcatgcg ctacacatgg 120
 ctttctgtgg cctctcagta gggcatgagt gagaccatac ctagcatagt cttcaagagc 180
 atgggtctggc cgggcagtag tggggcacgc cttaaatccc agcccttgag aaagcagagg 240
 caggcagatt tctgagttca aggccagcct ggtctacaga gtgagttcca ggacagccag 300

ggctatacag agaaaccctg tctctgtaaa aacaaaacaa aacaaacaaa caaacaacaaa 360

aagagaacat ggtctgtacc tccttcttac ctttagcctc cgaaagtctg agctgttctt 420

atactactgt ggccaatgca tcctcttctg gaatctgcag ttatgacatc ggaagtttgg 480

agaaggccag aagctgctcc tcagggtttt ctggcttctt gtggagacag cctgactttt 540

cccagggctg gttaaaccac aacatgtttt gtttagctgc ttctagacct gggtttgctt 600

gctggatggc agaacaaact gccaatcaca agttcttggt caagaagaag taattaagaa 660

actcgatggt ctggccgggc agtagtgggg cacgccttta atcccagccc ttgagtaagc 720

agaggcaggc agatttctga gttcaaggcc agcctggtct acagagttag ticcaggaca 780

gccagggcta tacagagaaa ccctgtctct gtaaaaacaa aacaaaacaa acaaacaaac 840

aaaaaaagag aacatggcct gtacctcctt cttaccttta gcctcccaaa gtctgagctg 900

ttcttatact actgtggcca atgcatactc ttctggaatc tgcagttatg acatcggaag 960

tttggagaag gccagaagct gtcctcagg ttttctggc ttcttggtga gacagcctga 1020

cttttcccag ggctgggtta acccaaacat gttttgttta gctgcttcta gacctgggtt 1080

tgcttgctgg atggcagaac aaactgccaa tcacaagttc ttgttcaaga agaagtaatt 1140

aagaaactcg aggaagaaat gggatatacgg gtctgggcac tatcttgctg gcaactcagaa 1200
catgttcaag atagcttcta ccaggcagca ttcagagccc atcacttcag gtagcagaat 1260
gggggcctgg aaggtgttta tgaccaggaa cctatgcctg agcctgcaat caagccagga 1320
gttgtagttg ggatgcctct taccactgag catcaaacag tagttgaagg ccttttcctg 1380
ctttggcagg aacagtggta actattggta aatagcctat gtggggcctg gtaccaggt 1440
tactgagcaa gctacttatt caattctgcc ctggtttcct taaaagaata ccaggttgcc 1500
tgcccataa tagtgactga gatgttgggc catattcaga tccctgagaa tggtcacatg 1560
atggctagcg caggcttctg ctcagatctg cccatagaaa cttgacttta agaagcctca 1620
gcttcttagg cttcccagaa tgcacatggg gcaggacata tcaattaggg tagaggtctt 1680
ctttctctta ccatgtactg tgcaatgagg gcctggcctt cactatccag tgtgggaaga 1740
tcctctttgg tgaactcatt tgtgtttctg aagcaatgga catccctgtt ctggatggca 1800
gaccgaccac tcaggacttc agcagccact ggagcagtgc aatctttaca gttactgctg 1860
atatggaaac aggagtcctt gctcgcaaca acagctagga atattcactg ttagtatatc 1920
attgggccct ctggtctcct ggagacggac aatatcagca tccagtttgt tcaaaatgtg 1980
tctcagggcc atgggtcagt ggctactttc ctggaaaccc aacccttata tgagcttcat 2040

tgatggtcct ggttattaca catgacattt agcacaggtg gattgtcaca gggaagttga 2100

caaagcttca tacatcatag caggacgttt ttgggttttt tgtttgtttg tttgttttgt 2160

ttttttgaga cagggtttct ctgtgcagtc ctggctgtcc tggaactcac tctgtagacc 2220

aggctggtct tgaactcaga aatccacctg cctctgcctc ccaagtgcag gacttcttct 2280

gtattctcca ttcattctgtt ggtagatatg taaatagcca tttcctggct atttggatag 2340

tgggattcct tttcctgact taaattttta ttttaggtcc aacactaatt ataaacatgg 2400

ctgaagaaat tgatctcatt tctgttttta ctcttagtag tgaatgaatg tactttgaac 2460

caagacattt attaaccagg attacaaagc tacatttcat aaaattctat atatacagaa 2520

cctaaaacca gggaagtgtt aggggaaatc atgcaggaag ctgttaaaac ttccacttag 2580

gccaaaatta tgtttcagtg ttttgttttg ttccagtaca aagaatgcat gtaactcagc 2640

agtgcacttg aaaaaagaca agtccttttc agtaggtgaa agagctatgg cagaaagctc 2700

ttgaaacagg ttttatgttg gaacctctt ttcattattcc aatatatatg caaatatata 2760

tccatttctg gccctttaac tttttcaaag ggcatacatg atagaaggca aatgtagcct 2820

gttccacata tgagtttagg cagtgattaa gtgttttgca atagtattaa taccatagca 2880

ctggaactgc ctattcttct gagtagtgac ccttccttta cctgaaaatg tatagacaaa 2940

ctttgcaact gctttgtttg gtgctgggtat agagtacata cctaattgcat tgtataaacc 3000

aataaagcat aaaatgcaaa cacagaatgg atgatagctc aagaaacttt tgctatgtaa 3060

tgaatcacct aaaaaggcag tggtttaaaa caacagtgc acattatttt tcatgattgt 3120

atattggctc taggatgaag tcgcattttt tgagagaata tcactatggc tgggatagtt 3180

aggtgtctct ttcaatgtct cttttcttcc agaatgaata ggaccagaat gtgtatgaat 3240

gctatgcggt gtatatgtgg gacaccacgc aggtgcctgg ctcctgagga agtcatagag 3300

ggcttcatat ttgctggaac tggagttagt gagagttgga aatcaccatg taggtcctta 3360

gactcaaact tgggctgttt atttactgca agagcagtaa gttctcttaa ctagccatct 3420

ttctagcccc attacatttt aaaagttttt tttaaaaaa gatgtgtgtg agtgtgtatg 3480

ctgtgattat gagctgcttg gatgctggga acagaactca ggtcttgta aagccatttc 3540

tccagcaacc cttcaccaac atcccacccc cacctaattc tttcttaaaa cttaaactaa 3600

atctaggggtg atattacttt gttgggacta cgaatttgct taaaaaccaa caaatccat 3660

ggcaatcaaa tatcttagtt attagaacat gcatttaaaa gtttctacaa gctgcttcaa 3720

aaagaataca agtgaacttg ataatatagt gtactcatcc cactatatcc aaaatactat 3780

caatgccaac ataaaaccaa tgtgaaacag aaattataac atttcttata aattctggga 3840

atgtagtgtg tatattattc acagaacaca cttcatttca gtgctcagga gctaaaagca 3900

gccagttgct tcagtactag acagtgcaca tgtagactga acaattggaa tgcaggcaat 3960

cctctctcca gagtaggcat gcagccagta tttttgaaaa gtgtataaga aagataaaaag 4020

gactctgcaa atcttgaagc aaagttttct atgttctacc gttttctttc tttctttctt 4080

tctttctttc tttctttctt tctttctttc tttctttctt tctttctttc tttctttctt 4140

tctttctttc tttctttctt tctttctttc tttctttctt tctttctttc tttctttctt 4200

tcgatttttt gaaacagggt ttctctgtgt agctttggct gtcctagaat tcactttgta 4260

gaccaggctg gcctcgaact cagaaatcca cctgcctctg catcccaagt gctgggatta 4320

aaggcatgtg ccaccacacc tggctaccgt tttctttaaa gtgtagcttt ggggggggtgg 4380

gggtgggggg gaccgcacat caggagacat gccattccag catatcaaac cagtgagtgt 4440

agggcttccc gactcctagg aagcctgaat catccgggat gttgactcat cagcctgagg 4500

tgagtgaaaa atagtgaacc aattttgcct tccaaggcat ctatttcaac gttccttccc 4560

ccttctccct ttctggtgac tcattctccg tgcactttta gaggccagca gaatgcaagg 4620

ccgaaagcat tctaaacagt gagcccagag ctccgggtaa tctagcacag ctgttttgcc 4680
tacctcattc caggcctgca gtctagaaag ggagggaact tgaaagtgtc aaataaatgt 4740
tttggttttc tttctccttt tgaggtggtg gtagttatgc gttgggacca tgtctgaaaa 4800
taagtctttt atttaaaaaa atccgtaaga cctaattcag tcttgtagt acctttctcc 4860
actttttttt ttttttccc ttttcgggga ggaaactttc cactcctagg tccccaggat 4920
aacgcccttc cacaggcttc ttggaaaact ctccgaatcc tggggccgca gcccgcccc 4980
ttttggtaga ctaaaatccc gctgtaggca aggccaagtc cccgccccat tccccaaacta 5040
cactaggtgg ggggtggatcc cagctccaaa tcccgcctc cgaacgccgc caaggaagta 5100
tggcaggctc cgcctgcacc ctatttctat tggacaagcc cgtgatccat cttctctatc 5160
ccgcagccta ttggctctct gtcccccgcg ccagccaagc cctcccctgc cggaaggtg 5220
agtcacgcca aactgggcgg agagtctgct ggcctctctc agttgctcat ctgggcgggc 5280
ggcggctgct gcaactgagg acagggcggg tggcgcatct cgagcgcgga ggcaggagga 5340
gaagtcttat tgttcctgga gctgtcgct ttgcgggttc ctcggcttgg ttcggccagc 5400
ccggcctctg ccagtcctgc ccaaccccc caaccgcccg cggctctgag gagaagtggc 5460
ccgcggcggc agtagctgca gcatcatcgc cgaccatgga agacatagac cagtcgtcgc 5520

tggtctcctc gtccgcggat agcccgcccc ggccccgcc cgctttcaag taccagttcg 5580

tgacggagcc cgaggacgag gaggacgagg aagacgagga ggaggaggag gacgacgagg 5640

acctggagga attggaggtg ctggagagga agcccgagc cgggctgtcc gcggtccgg 5700

tgccccccgc cgccgcaccg ctgctggact tcagcagcga ctcggtgccc cccgcgcccc 5760

gcgggccgct gccggccgcg cccccaccg cccctgagag gcagccgtcc tgggaacgca 5820

gccccgcggc gtccgcgcca tccctgccgc ccgctgccgc agtcctgccc tccaagctcc 5880

cggaggacga cgagcctcca gcgcggcctc cggcgccagc cggcgcgagc cccctagcgg 5940

agcccgccgc gcccccttcc acgccggccg cgcccaagcg caggggctcg ggctcagtgg 6000

gtgagtgtg ctgcgcgtta cgcccctccc tcttttgtgt cttggcccgg gggaggtggg 6060

gacgggcagg gctgctcggg accctagggc tttgtctacg agtggcaggg tgatggcgcc 6120

cccgtggcg ggaggcgggc agaagggtgg ggcggcctcg gaagcctggg tgccttcatt 6180

gtttgtcggg gtttcgggga gcacgtgcac cgctgccaag tcgctggttc ccattccagc 6240

acgaagtict cgcctatcag cagctaggag tgtgttgaag aactaggatg gtggattcct 6300

tgggctgggc tgggctgggc tgggctgggc ttggaggtgg gaatgggaag gctgtggtgc 6360

cctaatccct ttatttaaag gatgggcggt tgtcgaccac tctacagttt ttttattttt 6420

tagggcctgc cttccttcct gccgggcgtc gggggatccc cttgcactaa tcccctgttt 6480

ctttctccct ttattggtgg ggaactggcc gagctgctaa cgtctataca gtaacccaac 6540

tgcggtgaag ggggagcgag cgcctccagt ggcgtggttc caggagaaaa gggaaggaga 6600

gacttttggg gaagtctctgc caccgcccag ttcatttgtg tttaatgtgg tgattcctac 6660

accagcctga gaaacgagat ctgggcattt tgttccgatg gggcatagtt atccagggcc 6720

tcagttgtgc tgtaaaagaa attgccaaat ttaatggcat ctcttagcct ttaaattgcat 6780

cgagattgac ttgtagagaa aaggcaaaat ggttgacctt aaaaaggggc aaacctgtgg 6840

attcctggtc aggaattagt tgaacttgtg gtagatttat cctgagacat aatgaaaatg 6900

ttttagggca aatgttccta tattagttag aagtttttat aagtatatga tttacattga 6960

caaaatgcat tgaatattgt tttattgccc ttttattttt ggaaagggaa aaaatcaaat 7020

tttataaaga acgagaatgc atcttaagta gtttattact ttgggacaaa gtgtcttgct 7080

agcaaaaagc cttttttttc tttttgtaaa gtaaggtaaa aaattaaatg gtataactgc 7140

ctgctgggaa attttcacaa cattccagat ctaggagggtt ttattttttt agagaaataa 7200

tatcacccca gagcttgcag tatctttttt attacaatta actcttttat aatggggata 7260

atgaatcaat agaagtgttc ctgggtaaca attcattatg ggcacactca aaggcactat 7320

tcaaaaacaa ctctacagt taaagaatit agatgaagac tgccttgtct tttcattttt 7380

attttccttt cttttttttg agggaaacta aagtagaaaa aaagtaagta ttaaaatit 7440

aaactggaaa caatgattgg ccaaactata cttttcattt tttctacttt catagaaaca 7500

agataaatag tttgtcctt tgaatatga ggggactcag gcagcatcag cattttcttg 7560

aaatactgac aaatititaga agattitaga atactaaca agittitaga acaaaaaagg 7620

aatgttgtct acccaggaat tttgtactca ttgtgttttt tggaagcttt attcccttta 7680

ttgaacacaa caacagtga ttgtggcat tgatagttaa ctcatcgcaa tacattagat 7740

ttcttaatgc actgaagagt ttggctattg gctggtcctt attattgggtt acctaggaca 7800

ctttacaaag ttctgggctt ccaaggtgtg gcagtaagca agactcatgc tcccctcatg 7860

gggataatac acaaaataag cacacaaaa agtactaaaa atgatgggtg tatgaaacga 7920

taacagcttg aagggatgag aataactgaa acatgtgtac cttttttttt tccttcttaa 7980

aatctatit attttatgta tatgagtaca ctgtagctgt cttcagacac atcagaagag 8040

ggcatcagat ccattgcag atggttgtga gccaccatgt gggtgctggg aattgattga 8100

actcaggatc tctggaagag cagtcagtgc tcttaaccgc tgggccatct ctccagcccc 8160

atgaggaccc ttttcaaggt tgcttgatga taggaaaaag aactaagggt tgagctgcag 8220

agaaaaaaaa atatataata aggaattcct agggcaaaga ccctgaagca ggagtgcagct 8280

tgtttattaa ctaagattat taaggaaaac ttatgcagag tcaggtaatt aggagcctct 8340

ggggtcacgg taaaaagtat ggcttaaaga aatagtattt taggaatatg ctacttgaat 8400

aattacattg tgattttgga gcaaaaatgt agctttgaag gtttatagat gattagaata 8460

aagacaaagg tgaaagcact ctgtccatgg ttagaataga caaactggga gaggctatat 8520

ataaaccct agcaactgtg tttaacactg ctatttacat tagttttttt ccttaactct 8580

gatatccttc agttagtaag ttatagtttt cctgaattgc agtatctcca ttgtaatgta 8640

ttgagacctg taccttttac ttgatgacca tttttctaga aagaatgggt catttgttct 8700

aaggaaactt agagattgat ttgaggaaag tgcagacatc agttgaccat ttttctagaa 8760

agaatgggtc atttgttcta aggaaactta gagattgatt tgaggaaagt gcagacatca 8820

gttaagatga ctaagctgat ctttagacac attggtaatg tgaatgaaag tgtgtgatag 8880

attaactgga attctgaagg gtattaagtc aaaataaagg aatctggatc ttattatcat 8940

actttaattc atagtctgcc gtgtcaagct gcttttatat catgaaatca aaatggttct 9000

tccccaaaaa aaaaaaaaaa aagatttgtg tgcgtgcaca ggccagaaac aggagggtat 9060

ctctcttgtt gagtacagat atttagatgt tggatatccag cttgataatg agattttatg 9120

agttgggttag tctgttttgt ttcgtttcaa aagaaaaaag atttatcaag cttctgggtga 9180

tgggtggtttc aaggcatggc atctgtcatc tacttggccg aggtaaaaac cttgtagata 9240

atgtcacagt ggtgagagcc tggactagag gaccacaatt acatgggtgag acaaggaacc 9300

tgggaggaag taggaaccag tcttggcctt ttataaccat catcttgtga gaactcaggt 9360

tctagtagaa cttttattct tcctgggatt acaaccaga ttacaaccac ttcccagtag 9420

gctgttctct ttttgtccct gggatttgaa ttgatggcct tgtgttctat agtgaagcca 9480

ctactgactg actcacttct ccaacctctc cacttttaat attaagttaa gttcttttat 9540

tttgtgactt ggggggtcttt ctgccacagc ttattgaata tctggaatta caggtttggg 9600

tatacaggcc cacctgtggc cccacttct taaagatatg attatctatt gatgtagaca 9660

tgtgggagcc aagctctgta tagtattttt gaacagtact gaagtaatgc caaaaatacc 9720

ttttcattag cttttctaag ttgtactctt gcagattgta cctgttggaa gtgtcttgac 9780

tatctgtcta cagttctgtg gaatggcatt tatgtgtgtg taccttttcc attttgtacc 9840

aaagtgtctg cagaggtccg ggggatatgg ttcatcgta gagcattgcc tcaaggattc 9900
caagtcaggg gtttgatttt tagcattgga aaaaacactg ctatccacat gcccgaactg 9960
atcaaacaaa caaatagatg cagagaattc cacagacata tagcccagta gtcctcatct 10020
ctgatttcac tttgtgaatt tcattacttt atgttaaaag aggctaagtg gaaagattcc 10080
aggaatagct cattagcttt aaattatatg ttgatctgat tagggtgata aattatccct 10140
ttcccaatgt atccatgctg tctgtgttgt acctccatt ttgtctcttt gtaggagaa 10200
aaactagtga ctccaatga gcttatattt aaatgagcat taaagtaatg agattggcaa 10260
agctttaaaa ttacttcctt tgattgaaac atgaaaattt atcataagtg tatttgtata 10320
tggaagaaaa tcagtttatt tcgggtttat ttactgtgct ttcaagagtc cactgttata 10380
tggggatata cctcctgggt gatggaggag aatccgtgac ctttatttca ctttaaatg 10440
accccaaagt gcaaagtag tttatctaag ctttatcata ggtgtgtggt ataggcaaag 10500
agtatgtatg gagtttaata ctatttcaat tgcagggtgc ctctggcaat agtaaaaaaa 10560
aaaaaaagga tctcatgaat aagagaactg ctgtatttaa tctcttctgc tctggtagtt 10620
atgtagatta gcctttcctg ttacaaacag tgttgctatg aacaccttta ggtattattt 10680
ccttgagat gaatgctgaa gggttcactg tagggttgta gaataaatcc attcaggtaa 10740

gatttctagt tcaaaaggag ctigtataca acgttgggtg ctgacaaagt gccctataga 10800
gcggtgacac agcttatact tccagcaaca ttgtgttaaa agaacaaatt ctttcttaag 10860
cctttatcaa cactacattg gtaaactggt aaatagtta gcaagtagtt atactttaca 10920
tttgtaaaaa tttctatagg cttaggttgc taagatgttt tgttctaate attgcttttg 10980
cctactttga gttttgattt ttatggctgc aggatcactt gagcttatat catgggctag 11040
cttaagtttt tttttttttt taaacaaat tattttatat gtatggttgt taggcctgtg 11100
cttgtctgtg cacaaccgca tgcacagagg ccagaagagg gcatgggagc ccttaaaact 11160
ggagttacag acaattgtga gtcctgtgt ggttgctggg aatcaaactc cagtctttta 11220
aaagcagcca gtgctcataa ctgctgagcc atttcttcag cccaggtgat cagtttttta 11280
gcatgttttt ctigaatggt tttcgtatt ctgaccacag agtatacttt tctgtgcatt 11340
catttttttag ttagatttat catttcaaaa aatgattttt agccgggtgt ggtggcacat 11400
gcctttaatc ccggcacttg ggaggcagag gcaggcgaat ttctgagttc gaggccagcc 11460
tggtctacag aatgagttcc aggacagcca aggctataca gagaaactct gtctcgaaaa 11520
acaaacaaac aaaaaaaaaa accaaaaacc aaaacaaaac aaattgtcat aaaagtcatt 11580

gaaagtcctt agaaaggcct tttctaattt ttttttactg ttagtacatt tatgatttta 11640

ttttaatcct tgtttgctgc ttagttctgg agtgtgaggt ttaatataat tttcatgatt 11700

taactccatt tattacatac tctgtctgac ctactgaaaa tggatataat ctctgttcgg 11760

cattgtttat atataagtac aaagttgttt taattactaa aggttttaaa taaaatactt 11820

catgataggt ttttttaaaa atcagaatat ttattttttc atcagaatat ttatgtgtgt 11880

ttaatatttt tttttactga ttttaaaaaat ttattaatct ggatgcttct gttagaaatt 11940

agtcagggtt attttatata tatatatata tatatatata tatatatata tatatttaaa 12000

tttatttttt gagacagggt ctctgtcctg gacctggctg gccttgaact ctgagagatc 12060

tggctgcctc tgcttcccaa atgctgggac caaaggcctg tgtcaccatg tctagctcaa 12120

ttttaagtc ttaatttacc ttttcctttt acaggtaata tttatttagt gtgtgctaaa 12180

gcatctttgt ctactccaga attgctgttt tcactttgat gtttaatagt attagttgct 12240

atgtttgtat taagctctat ttgaagtaa attttgctta tgggatatgg ggtgagttag 12300

ctggcaagga gacaagatgt ctacccaaaa cagaaaagac ttactatagc tactgacagt 12360

agtttcaata tcagcatttt ctgcagctat ggtggatttt attacagggg aggacttttg 12420

agctgagtga aaatgacttt ttaaaaagat ttatttattt tatgtatatg agcacactgt 12480

agctgtacag atggttgtga gccatcatgt ggttgctggg agttgaaacc tctgctcact 12540
ccagccccc ctcactctgc ccaaaggttt attattatat gtaagtgcac tgtagctgtc 12600
ttcagacaca ccggaagagg gcatcagatc tcattatgga tggttgtgag ctacatgtg 12660
gttgatggga tttgaactca gtaccttcgg aagagcatct ctccagccct gaaaatgaat 12720
ttttatact gtaaagcatg tatgatcttt gttgaggaag aactgatgc tgttttctaa 12780
gtcatattca ccacaggata acctttgaaa aggtacaagc aaggacagtc agtgtccagg 12840
ctttccactc ttacaatgta taaaatccca aaaagcccat agagaactat ttcctgaccc 12900
tgaattaatg aacatgtccc ttgatacagg atagagattt tgtgtatctc ttgttagatt 12960
tgtgcctaag cattttattg ttgttacaaa tgatactttt ttccaagcca ggtgtagtgg 13020
tgcatacctt tgatcctagc actcaggagg cagaggctgg cagatctgag ttcaaggcca 13080
gcctcagcta tatactaagt ttcaggtgag ccaggactac atagcaagtg tttttcccca 13140
tatttgttcc tattatatgg aagtgcagtt tgagttttgt gtattatctt tgtatctgtc 13200
ttacactctt gataagttca ctttctttct agaaatgtat atccattctg ggtcctagtg 13260
atacatatat tttgagtatt tttgtgttaa atcttcagc gttgccaaac cttcacagta 13320

ttcatttaac tgatagattt gcctagtttt ttgcatgtg caatgtagtt tcccttgcct 13380
tattagatac aatTTTTTaa attcatcaat tatatttttg gtaggtaaat ctttaaaatg 13440
aatgtgttaa agaagacagt atttgagttg tggacattgg tgagattgta gtaaaaaatt 13500
gcagtaatta aaaactaaca ttttagtttt actttgtaaa gtaatggact ttaagtcag 13560
tgatgttttt ctgaacagt caattctgtc catttcactg ggggtaaagg aaaacaagca 13620
ctgaatatag ggataaagta agttaaaagt ctggctatgt gacttcgagg tttcatagat 13680
gcgatatcca gacacactgg gaagaattaa gtttggccag cacagaagat actggaagaa 13740
ctgggatgca ttgggaccat ttacagagg acctatttt agccaagggt tgattaaaaa 13800
atgaacaact gggaggagct tttaaagtgt ttgaccacg agaagggatg gacagctttt 13860
tctctctcct ctctctcct ctctctcct ctctctcct ctcttcccct cccctcccca 13920
ccactcccct cctcctctc ctctcttctt cccccctt ctccttttt ctcctctttt 13980
ctcccttttt cctgtctcc ctttcttct taagtaatat tagtgtaatg gcagtagagt 14040
ggaaggactt accagaaaag ttgtggcttc ctctttagca tattttaaaa taacattttc 14100
atatatagtt gtctttatgt atatttgat atactatgat atgttatctg ctcacagtag 14160
cacaaatgaa attaatgatt taaaatgtaa ggTTTTTaa ttttttgaga tcagagcttg 14220

ctccggttct tctgagtgcg ggcattgcag acatacacac cattggtag cttttgtctc 14280
attctgtaaa gtttggtggt cttaatagtt ctcagaaaag aagccatttt ccccttttat 14340
aagcttaatc agtgtatatg tcaacttcct cagaaatgca gagtggtaca tctttttatt 14400
taaaatagcc ccctaattat agtcattcat ttgcaaaagt gaggggtcttt acaaaaaaat 14460
tactaagcta acatcaacag ctgtttttca aaacaagcga tacttttagg catttttaga 14520
ctaaaatttg tttcccttc tgcaccagtt tgagatagat gctaatatgt tgttttatga 14580
atgaggggct gaggaggaaa gctagaaaat cccccccag ggccacacat gggcatagaa 14640
gacccgagat ttgaattcat atgtacctgt tgcccacat tgcttaaaga cccaaaaggc 14700
ctcccctcct gcgaagcatg tttaaaatga caaaacttat tttgtgatga atgaatttca 14760
agtttagata atgaggattt tattttcttt aaattaatga tttgaaatac taacttaaatt 14820
gccttagttg gctaaatgcc aagtttttct atgggaaata ttctggtatt agttaaaaat 14880
aagatatggt ttttaagaggt tcttgaaaaa gactggcaca attttaagtt agttcatttt 14940
gtggctagtc ttaacaatag cttttcaatc agtgacttct aactatattg tgtagaggta 15000
ctattttggt aaaaaaataa aaaaactttc tttttaaatt gcttcatcta gttgaatatg 15060

ttggttctgc cttttgagcc caaatitgct ttttcttttt ctttcttttt tttttttttt 15120

tccttttttg attcttcagc tgagagcaag aggatttatt gtacacaaga tacacttgac 15180

cacaagtgag atcagaacta gtccagaatg ccaaaggcag agggccagcg ggactgtttt 15240

ggttgtgaga aaggcagtca gtttcctcgg tgatctgggc aaggtgacat tccagggtcca 15300

ctgagactta ttaccgacag cagcctgcag tctaacaact gtacctggct ttgagcatct 15360

tttctgttcc tgtaggcatt gtgggtacac aagctagttt acttggacat ctgcctcatc 15420

ttctcttgag ctgtgtttga gcctgagtat tctcctctc tgccactttg ctctcatggc 15480

acaagagtgt cgaggaagat ggtgctaagg ccaagcactc tttttttaac aacaaacaaa 15540

caaacaaaca aacagcccta aaacctata tcaactgtgat ggttatcttt gttaacttca 15600

caccacctat attcaccctg gaagagagct ttagtgcaga gctgtctata tatattaagt 15660

tggtctgtgt gtgtctgtcc aggattgtct tagttaattg atgtggaagg acctaattcca 15720

gtgtaggttg taccattccc tatgtagagg tccctgcaat ttctaggagt agagaaatgg 15780

aattgagtcc aagcaagcat gcacataatt tctcttttgc tcttgactgg ttatgatgtg 15840

actagctgtt cctgctgtga tttctctaca attatggact ggaattgtaa gttaaataaa 15900

tcctttctcc cccaagttgc tttcagttag gatgttttac tataatcagca gaaatgaaac 15960

taggagagtc acacataaca tttaagaaat atgtacatgt tgtacatacc gcagaaaatt 16020

tcctaagtaa ctgttggtt tctgggttgg gtgatgttct ttcctaccta tttcttgttt 16080

tactgttttt ggttgtgact atgcttgtgg tttgtgacca gtgtctaacc aaactgttga 16140

acctggtctt gaacatggga attcacgtga ttctcccttt tctttctttc ttgtttgttt 16200

tttgttttgt tttttcaag acagggtttc tctgtgtagc cctggctgtc ctggaactca 16260

ctttgtagac caggctggcc tcgaactcag aaatccactt gcctctgcct cccagtgct 16320

gggattaaag gcgtgtgcca cactgcccg gctgattctc cttttccag tctcatgagt 16380

aggttgggat ttaggcatg cactgccatg cctgggttat ggagaccttt ttaaactttt 16440

cagctttttt ttttttctc accatctatc tcatctaagg atgctgtgac attgtgcctt 16500

gtggggattt agtcacaatt tathtagcat tatgaaatta cctatcccct gttgattaag 16560

gggacttgga agagaagtcc atttttttt ttttttttt tttgttaact atatatatct 16620

tttactctgt gttaatcagc attgtttagc ttgtatttag cttgtattta cttggtagaa 16680

gtgtctttcc aagtttattg ggtcatcttt cctgttatgc tttgaattat tccaagtagt 16740

cctgtgctgg agtctttccc tactatatat aaaacagaag attttttagt tttctgaacg 16800

ggtacaaaag atattatata caacgttaac cctgtaatga atactgtatt gtctacttga 16860

gttgacagta caaaatataa gatgggtagc taaaacaaca gacgtttctc acaatgctaa 16920

agattgagaa gattcattag cttgtcagca aggtcgattt tattgtgaga caacctcttg 16980

gtagcttgct ttctgtgcat attctctggg atctcctctt gcgagggcag taatcacatt 17040

gagtcagagc ctcathttca ggacctcatc taactctggg cacctcccct aagctatatc 17100

tggacatcta atgtaggaag ttaaaaattt aacctgggaa tgtggccagg gcacaaacat 17160

tgctgtattt tatgtaggaa agattggagc ttaattatag gtagtcctcc cgttagtgtg 17220

gaaattagtt tttgttgttg ttggattgtt ttaattttt atataaaggg gaactattac 17280

caccattatg acaatagggt ggtatgtaaa gtaaattgta gggataaaaa tacttaaaac 17340

aatgagaag gcaaccaatg ataataagag tagggctgct tttatttttg agtggcattt 17400

ggacagtggc acatgactta tcttcagtac tgttcagtac tgccatgcac tgtaagagaa 17460

gaatataaaa gaaagtatgt aattctcaga aagtgccctt ttaaatggaa catatgctag 17520

gaacaaatga ttacttgaaa tagttattaa tttatcatat ttaatctttt atgattaaag 17580

atggagtagg acaaggtttg gatacagtat attaagtgat aatactgtgt ggaaaatcac 17640

tttgggtcaaa actcaatata aacatgctgt attgcctctc aaacaatgac taacatttag 17700

tcatattagt tactatttcc tacttccttt ctgccttact agccatttct cttaaaatgt 17760
ggttagctca ttgtgaactt ccccttgctt agtctcttgc tttcactcct ccagcctgct 17820
tgtatttctg ctgaggttgt attctgtttg tttttcagat gagacccttt ttgctcttcc 17880
tgctgcatct gagcctgtga taccctcctc tgcaggcaag ttctttctgc cagcctttct 17940
tctgtattct aactcactct aatgttaact caacagagta ctttgcatth actagaaatc 18000
aatgttggtc caagaatgth gtttttacia gagagacatg gtcaggattt gattcataat 18060
tgtaattcat aaggaattct tggactcttg gtttatattt acataatcat tcattttctt 18120
caaatagttt gcctttgtat agccacaggc ctttatgtaa tggaatacct gtctcattgc 18180
ctttgataat ccagtaccct gtctggcctg tgcagctggg tactcactca tcaaactcta 18240
ctttctcttt aaactattta gaaatagctt tttctagtta gtaacacctg aagttttctc 18300
agatttgatt tatactctgc atagtaggta actgcctctg aaactgcaca ttattctttt 18360
ttcttttaggt actttaataa ctgtatttat agggtagagt gtgatgatcc catacattat 18420
tcattgttgc ctggtcaggg ttagccgatt agcatatcca tcacttiaga tgtttttaat 18480
tactttgtag tgatttagag tcttcacttg gctataaaca ttgttaactg ttgtacagta 18540

gccatgtact ctttaaaatt gacaatagtt catatittca gtaatgatcc aagtctgtat 18600
ttattaacta aatgctattc atattcattt aataataaat gtttactaac acttttatta 18660
ataitgcata atacttgcat tagctctgag aacattggca ttctctaatt ttcctttcta 18720
tccatggcca cagaaaaaat tatggatttg aaggagcagc caggtaacac tgtttcgtct 18780
ggtcaagagg atttcccatc tgtcctgttt gaaactgctg cctctcttcc ttctctatct 18840
cctctctcaa ctgtttcitt taaagaacac ggataccttg gtaacttadc agcagtggca 18900
tccacagaag gaactattga agaaacttta aatgaagctt ctagagaatt gccagagagg 18960
gcaacaaatc catttgtaaa tagagagtca gcagagtttt cagtattaga atactcagaa 19020
atgggatcat ctttcaatgg ctccccaaaa ggagagtcag ccatgttagt agaaaacact 19080
aaggaagaag taattgtgag gagtaaagac aaagaggatt tagtttgtag tgcagccctt 19140
cataatccac aagagtcacc tgcgaccctt actaaagtgg ttaaagaaga cggagttatg 19200
tctccagaaa agacaatgga catttttaat gaaatgaaaa tgtcagtggg agcacctgtg 19260
aggaagagt atgcagattt taagccattt gaacaagcat gggaagtga agatacttat 19320
gaggaagta gggatgtgct ggctgctaga gctaatatgg aaagtaaagt ggacaaaaaa 19380
tgctttgaag atagcctgga gcaaaaaggt catgggaagg atagtgaag cagaaatgag 19440

aatgcttctt tccccaggac cccagaactt gtgaaggacg gctccagagc gtacatcacc 19500
tgtgattcct ttagctcagc aaccgagagt actgcagcaa acattttccc tgtgctagaa 19560
gatcacactt cagaaaacaa aacagatgaa aaaaaaatag aagaaaggaa ggcccaaatt 19620
ataacagaga agactagccc caaaacgtca aatcctttcc ttgtagcaat acatgattct 19680
gaggcagatt atgtcacaac agataattta tcaaaggatga ctgaggcagt agtggcaacc 19740
atgcctgaag gtctaacgcc agatttagtt caggaagcat gtgaaagtga actgaacgaa 19800
gccacaggta caaagattgc ttatgaaaca aaagtggact tgggccagac atcagaagct 19860
atacaagagt caatttacc cagcacag ctttgcccat catttgagga agctgaagca 19920
actccgtcac cagttttgcc tgatatgtt atggaagcgc cattaaattc tctccttcca 19980
agcactgggtg cttctgtagc gcagcccagt gcatccccac tagaagtacc gtctccagtt 20040
agttatgacg gtataaagct tgagcctgaa aatccccac catatgaaga agccatgagt 20100
gtagcactaa aaacatcgga ctcaaaggaa gaaattaaag agcctgaaag ttttaatgca 20160
gtgctcagg aagcagaagc tccttatata tccattgcat gtgatttaat taaagaaaca 20220
aagctctcca ctgagccaag tccagagttc tctaattatt cagaaatagc aaaatttgag 20280

aagtcggtgc ctgatcactg tgagctcgtg gatgattcct caccgaatc tgaaccagtt 20340

gacttattta gtgatgattc aattcctgaa gtcccacaaa cacaagagga ggctgtgatg 20400

ctaatgaagg agagtctcac tgaagtgtct gagacagtaa cacaacacaa acataaggag 20460

agacttagtg cttcacctca ggaggtagga aagccatatt tagagtcttt tcagcccaat 20520

ttacatatta caaaagatgc tgcatctaata gaaattccaa cattgaccaa aaaggagaca 20580

atttctttgc aaatggaaga gtttaataact gcaatttatt ccaatgatga cttactttct 20640

tctaaggaag acaaaatgaa agaaagtga acattttccg attcatctcc cattgagata 20700

atagatgagt ttcccacatt tgtcagtgtc aaagatgatt ctcctaagga gtacactgac 20760

ctagaagtat ccaacaaaag tgaaattgct aatgtccaga gcggggccaa ttcgttgcct 20820

tgctcagaat tgccctgtga cttttctttc aagaatacat atcctaaaga tgaagcacat 20880

gtctcagatg aattctccaa aagtaggtcc agtgtatcta aggtgccctt attgcttcca 20940

aatgtttctg ctttggaaac tcaaatagaa atgggcaaca tagttaaac caaagtactt 21000

acgaaagaag cagaggaaaa acttccttct gatacagaga aagaggacag atccctgaca 21060

gctgtattgt cagcagagct gaataaaact tcaggtaata atccatgcac cgtctcacca 21120

acttcttggt ttactatgga atacagataa cgttttgtga cataacattt ataatgtatc 21180

atgtctactg tgtcatgttg atgagaatct tttttactag ttcagtttta gttctgtggg 21240
gctggaaaga tggctcagta gctaagagca cttgctgac ttttaccctc tacaagactt 21300
aattaagttc gcttcccat caccgatgtg gtctctcaca atcggtata cctccagccc 21360
taagggatct gatgccctct ttgacctcta tgggcaacag acacatctga tccacatgca 21420
cacacacgtg caggtgaaac actcatacac aaaaaatcta aaatagagaa tgattaagaa 21480
aaaaagtttg ttctatccag gtagtacagt atagtctcaa ctgcaatcag gaggttcaaag 21540
taaaaggatt cttgtgaatt tgttgcaaaa accaagaata caaaagtttt atgttatttc 21600
ttccacctc acttctactt aacactcacc tttactgtag gcttttccat agttttgcat 21660
caatgaaacc aggaaaaaat tagtaaaatt atctttcatg atgcattctt ttcttcagt 21720
tttctgctg ctgtgacaag caaggatat taaaacaata ttttcatata tgtttatttt 21780
tatcttagat atgatttcat gacaaacttg caaagatga ccatttctgt tgcttgcttt 21840
tggtatttac ataaaataca ttatttttct agtgagaggt atgaggctag aaatactaag 21900
tatagatttt tttaaagaaa gtaattactg aaacatgcta tcaatttatg aaaagctctg 21960
tttatgtatt ttttaagtgtg ggagtgtctt gtctgcatgt atacctacat gccagaagag 22020

ggcatcagat ccctttatag atggccttaa gccaccatgt ggttgctgag aattgaactt 22080

aggtcctctg gaagagcctc cagtggccag tgttcttaac cactgagcca tctcaccagc 22140

cctcatttat acttttgact caacatttgc tatgcttggt ttgaatgctt ttttttaaac 22200

ttggcattct gttagctgtg ttttctagta gcagttatgt tgtatttact tacatattag 22260

agacagctag catcagatga gtatagaaat taattctggt acaagaggag agtctgaata 22320

ttcagataat gaatccggca tcatcctcct gttgggagga tatggagaga agtaccaaga 22380

ttctgggtgc ctgtcatgtg tgcaagttag caacatgaga acaaagggtg ggggcacatg 22440

agaaaataaa atgggttttg gagaagatta atttaatttg aatatattag tattgagact 22500

attaattgag tattgagaat tattaatgcc atatctaaga aactttgaaa caacttgtct 22560

ggctattaca tgcataatit gccatgaact tggagctaaa aattaaagcc acagatagga 22620

... acaagggaaa atcagaatgc aaagataaat gggcaacacg ttaagagcta aggattgaaa 22680

aaggagggaa gtaagtacgt gcaaccaaga cgcagacaga ctcaattttg ataacagaac 22740

aagaacaaga aggaaaaatg ttagccagca gaggaatgga atatggaatc gaagaggaga 22800

ttctctccc cactcacttt aggagaatca gttaataggt gctaatagtt aatagttaaa 22860

atgtacatag atgccagggt aaactctaga gttaaagtga aggggttggc tttgtagcgg 22920

aagaaagaat actgcatgta gtgggtagaa agaaatctgt ggatgcgtat tgatactgct 22980 .
agggaggatt ttgtgtctga aactgaggga cttggttgat tttaatgtta aagcagtgtg 23040
tgaggatatt gccgagaata agttgaaaca ttttggcaa agtaactgtg aaattattcc 23100
aactagagga agcaagggca gtgtgttaag agtttactca gggctttgtg acagcagtct 23160
aggcaagtgc attatttatt gagctatacc ctctgccag tgactttcaa tgtgctaaat 23220
agtctggata tgggatcaga gaatgtaaca ggtcttatt gaggtagttc tgttttgta 23280
catgggccag tagaaggaca gtgagccaag agagttgaga ataataggaa tgaagtagtt 23340
tgaagtcatt gaaatgatgg gctggcatcc aggttgaagt gaataggaag ttgatagaaa 23400
gagagtagta gatgaagtga attgtaggtc cagattaggt ctaagaacca aaagtgttag 23460
gaagaaaaat gtgactctta gaatgtttg ggaaacatag taagatgtat gtgttgggta 23520
ttgagtttag aattttactg caaaagcagc tccgagacca aggtttggcc attaagaaag 23580
ttgctgaggc caagaggta ccgtattgca tatgctgctt agaataatga caggatttca 23640
ggtagacatt atggtaaggg acaagggact ggggaagtgg ttcaggaata catcacttga 23700
taaaagtata tggccagagt tcagatcctc agtaccacc cacataaaag cttgcagcta 23760

cagcactg aaggcagaaa gtggacaggc ttgctagcta gactacctga gtcagtaagt 23820

tcagggttgg gcaaaaagat cctgtctcag taaacaacct gtggcatcta tatgatgtac 23880

ttaaatgagc acgcatgcac actccctcct cccaaggtgt aagaacaaac aaggacaaga 23940

gtcttttgta aaaggctttt gggttaactga tggggagaat agacaaaagc agtaagaaaa 24000

gatagagtgt gacctagcca ggcttctaga atgatggctt agatcgggaa gcagcattag 24060

atagcagcag agtacttgac ttgccttgtc tccagttgtg caaagtatgg gaaagtaagc 24120

agccttgatt ttagaagcac cacagggaaa gcagtgtcaa agaagagttg gttgttttgt 24180

ttttttttt tttttttttt tggtttttcg agacagggtt tctctttata gctctggctg 24240

tcctggaact cactttgtag accaggctgg cctcgaactc agaaatccac cagaaatcca 24300

cctgcctctg cctcccgagt gctgggatta aaggcgtgcg ccaccacgcc cggcgagagt 24360

gaggtttta tgaatgggaa gtgaaagaag gaatgcttta taaaaaatga aggattagaa 24420

gagatggctc aggatcaata gtttcaagc agcatgttaa cgtgccctag gggaaactgt 24480

aaacatgcat gataacacgg tgcggtaagg ctagggagaa gcaggcatat gggcagtatt 24540

gaaatacctg tgaaatcgcc ttctaacttc atgctacctc caaaaactca actctagtca 24600

tatgttctta gtttgatttt ggtaaaccta ggatctatag cccctagttt ggaatgaaaa 24660

ggattaaaga gcagcagtc cttagaaggc taaataaaaa tgctgaggaa tgggttggtg 24720

ctgattttta aggaaacaat atcttcaaga aaatcattta gctcaacctt ttcctccctt 24780

gtatgtatgt agagatagag acagcatatg tgtgtgcccc tgaggttgat gttgggaatc 24840

atctgcaacc actttctacc ttacattgaa gcaggcttca catatggcta gccagtctgt 24900

tctagggacc ctatctctgc ttcccatatg ctgggattac aggtgggtca ctgtgcccac 24960

ctggcttttt gtggttctaa gatggcagac tgatgcttgt ttgtgtggaa ggtgtttaac 25020

ttctgagcca tatttatata tttagggtac tgtgtgataa tttgataact ttccagtgt 25080

caagttagca ttcccatgtc gttttttttt ttgttttgtt ttgttttttt gtttttttta 25140

agacagtttc tctgtgtagc tctggctgtc ctggaacttg ctctgtagat caagctatcc 25200

tcaaattttc agaaatccac cttcctcaga ctcatgagtg ctgggttgca ccaccactgc 25260

ccagcttgtc agtaattttt aaacttagca ttagctgcta tgtccattct cactagagga 25320

atagaacata atttgcatth aacaaatgtg tgtaagcctt taatcctagc acttggaagt 25380

cagaggcagg cagattctct gagtttgagg ctagactggg ctattgtaag ttccaggaca 25440

gccaaggcta cacagagaaa ccctgtcttg gagaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaacaccac 25500

caaaacaaca taacaagtgt gtatatcca taaaattcac aggaagtgtt tgtataattt 25560
ggatgacatg aattctagtc tttctcacat ctagatagat gttgacttcc tttactgtaa 25620
aaggaatgaa gttagattag atttttctgc ttgatatttt tcttaattac aataaacatc 25680
tattaaaagc aggtacttat aattgctttg gcttggttgt ttgaagtact atcctgtatt 25740
tcttttcttt gagagtgggg gagacaaaaa tctttgttct catgtaactt tggcatgcac 25800
acacacacac aacacatggt tttgttcaag tagcttacag gctgtggtcc aggtagtcca 25860
acaatgggta tctcttgaag gaaaggccaa ggatctgggt ataaaaactga aagtcttagc 25920
catctcaatc ttttgacggt ttcaggtaat tccttcagag gtcttgagtc tatgttgga 25980
cctcacagaa gtacattcta ataccaccag ggggtattagt gccttagtaa cgggatagat 26040
gaacttgcca gagagactga ggtaaggaa gcaaaaagca aaagcttttt atgcaggctg 26100
gcccagattt aggggtgaatc tttttccacc ttcagataat ccaggtttaa ggtgggtctt 26160
cccattcaa atgatcaaat caagaaaatc ctccacaggt gtgccaact acttgggttt 26220
cttcagattt attttatgtg tatgagtgtt tgcttgattt gcttctatat atgcatcaca 26280
tgagttcctg gtgccaggga ggtcagggtg tattgactct cctggagctg gagttaaga 26340
tggttgtag ctatcaagt ggtagagggt ttttaactttc tttttggttt ttcgagacag 26400

ggctgtatag cctgtatagc cctggctgtc ctggaactca ctttgttagac caggctggcc 26460

tggaactcag agatccgcct gcctctgcct cccaattgct gggattatag gagagcgcca 26520

ccacgcccag cggtttttaa ctttctttgt taggtttatt ctaagggttt tagaatttga 26580

aacaggttct ctctgtgcag cggggtgggg aacctggaac cctccctatg taaatcagat 26640

tggccatgag ttttaattctt cccgcctcta taccctgagt gcaagattaa atgctcttca 26700

ccacattgtt tcttgttcag tgtgcccttt gatggtatgt agacagtcta ctgtatcttt 26760

aatgctaact ttgaatccta accatittgt agaagggtgt tatcagatta tcagccttct 26820

tgtggagtct cgagggtctc tgatgtatag aattgtaaca cttgaaaata ggattttttt 26880

tcttaactac ttcctttctt atttaaagtc cttttattac cttcctgtgt gttactacca 26940

aagccaggat ttcaagcatt tattggatcat ttgtgcttta gtttttatga attgcttgtt 27000

taacctttgt tcatttttcg attttgatgc tctatgatct tgtttttatg tgcagggtgc 27060

aaagtcttct ctctctaaga tttttatgca cacatcagtg gacagtttga cttttacaaa 27120

ggaagccgct ttctttttac tactcttaat tttattctta cttagttcca atttatttat 27180

aattgtcgca gttattttta ttcccatcat attctgatct agcctcctgg tgccaggcaa 27240

ccattcaact gttggatgat tgagaatagc ttttgctagt ttcccagtgg ttggttaggc 27300

aatcaaatgc agatttgggt gttggtgcc a tctagtgtgg gtaatggtaa aaccatttct 27360

atggaatatt tgataagtaa ccatactgaa taaatgtggc tggtcacaaa atttcacact 27420

tgttataaaa caaatattata aactattttg aattttgaca ttttgtacag aattaaatac 27480

ttgagctatg ctataagcat tctgaaatga ccctgaagat gtgtttctgt taaggtaaaa 27540

ggcctaata ga cttaatTTTT aaattgtaag tttagaaata ctttgggtct ttaactcact 27600

cactctctct ctctctctct ctctctctca catgcttgtg cattcgaggt cattgcattc 27660

aaggctcat atttgatgag gcatgtcagt ttgacttcac aaaggaaagc ctgtttcatt 27720

ttttagtact cttttatttt tacttttagt tctgatttat ttataattgt ctggattctt 27780

gcagagttat ttttattccc atcatattct gatttaacct cctgggtgcaa gagaaacatt 27840

ttcagtttct ctggatttta atattcatat attgaaattg ctatgtgatg ttgttaaaag 27900

agtttgaaaa tgctcaattt tttgtcattt tgaatgttat tttttagatt tcaaataccta 27960

ttccattttt gaatattgag ttcaccattg ttgaagtact gacttttagt ccatagaggg 28020

cattagatta cagcatatgg tagggtttat ggttgttaat gtctctcagc agtaaaacat 28080

ctagttttgt acctctgtgt gcttagaatt ctaaaattag tttcaagact gctgtgtaac 28140

tgtcactggt tcatattaat aaaagattcg ggctctccat tattaataga cgtctaaatc 28200

gtagcttccc aaaacaatat acaagcaaag taaatggctg ctctcttctc ttttctcttt 28260

tccttccttt tccttttcct ttttttcttt tcaatcttta aaggcacagg gaaatttaaa 28320

aggaaggaag gaaggaagga aggaaggaag gaaggaagga aggaaaagga aagggaaga 28380

agggaagaa gagaaagggg aagaaggaga ggaaggggaa gaagggaag ggaaaagcaa 28440

aacaaaccaa aaattttgct ggcattaaaa gtaaaagaag tggaaggagt ttgagagagc 28500

aggatgaggt gaacaccagg tgggcttact aactaggttg ttttgtttct tttttgaaac 28560

aaacataact atataatgtt agctggcctt gaactcagag aatgctacct gactgctttc 28620

ccaatgctgg tttaaaggct tgtaccattc tgggctttca catctgcttt gagacagttc 28680

tcttgctgtt aaaatccttc caaatagata caaactttaa aaaaaaaaaa aatgctcccc 28740

aggcagtggg ggcgcagtc tgattccagc acttgggagg cagaggtagg tggatttctg 28800

aattcgaggt cagcctggtt tacagagttg agttccagga caaccagggc tacacagaaa 28860

ccctgtcttg aaaaaacaaa acaaaacaac cccaaaactc acacatgcta ctttatcaga 28920

gatttttttt attagcaact tatttaatta tattttttct tagttaacca tgcattgtaa 28980

aaaaaaaaa gtgttttgac taaggtaaga gagacattga aagtaggtaa ttttagatca 29040
tcgtactctt tagaagtgag ttggagacct tgcaggctctt tggttttatt ttttagcat 29100
tatatttaca agtttgatct gtgactcttc ctttggcatt ctgtaaggag aaaatagaat 29160
actacaccag atattcaaag catcacgttg ccagttggtt tgcattgtga ttatttgagg 29220
actattcttg agagaatttt attctttaaa ggttggtatt taaattcatt tagatgaagt 29280
ttaatgagaa agtatgacct ataaattgtg tactcataaa ttttgctcgt tgatttttca 29340
gagtaaaata ttttgcttg gctaacttaa aaactgcagt tttaaaacac tgagaaagaa 29400
gtgggtaaaa atgtcagctg gtacctatga gttagctagt tttctctata cttaccataa 29460
attgtaataa ctaaaactaa agaattgatt atcattctgc aaaaacttaa cttaggcctt 29520
ttaatttgct ttcttaaata aaagcttaca gtatgaaaag tacatttaat attcatatga 29580
gtggattatt acacacacat tcttggcacc ttaaaattag cagacaagtg aagtattata 29640
aatatgtgag ttacatatat gctgaatatg ttaccttag agaatatgta acttgaaggt 29700
actatttact gtcttctggt gttttgttc tagtggagct cagattagaa cccatgcctt 29760
gagcctgtta ggtatacact ttacgagtta actatactcc ccgtccttgt ctgtcagttt 29820
gaaagagttc atttaaaaaa tactgtcctg gaagtattct gtattctttg aacagttttg 29880

gatgctaaac cgttatgtga agaggtcaca caatttcac tttgatgtaa tatggtgggtg 29940

acagtgttct cagaataatt atatcatata aggtctcagc aagtaaagtt agaaatactt 30000

cagaattctt ttaaaattgc ttttatttat aattgtgcaa gagggactta aaaatgagta 30060

attggcattc tgaacactta aggattttgc aaggttttgc aggcccacat aagtgagcat 30120

atttcaggaa gatatcccca tttcagtgtg gttacagcca tgagatgcat gtacttttat 30180

gcattgattt tatatatatt acatcttcaa atgccatacg tatttaaata tatttttagct 30240

gattaaattg gcactgttca tttccttttc tgcttaggca aatttagcat caggtaaaaa 30300

tcagttgtag aacattagaa agacacactg gaatgactga aagtttaata aattctgaaa 30360

aaatgggaaa ttctggaacc atttatTTTT atggctatta aattgtgcca ttttcatggg 30420

gtaaataata tagttattag tacatgaccg tttctctccc agccaaagat ttattgcaat 30480

ggtaggtagt tgagtattta ttaaaagatt gaattggaac aggtaacaat taatctagat 30540

ttggaggaat ctagattttt agaaatgtaa aggaaaaaaa aacctgatca taccttccag 30600

gatgcaaaat atgagttctc taagcctcag taaaccaga aaaaaaggca gttcacaacc 30660

ttgaaattga agttattaac ccatttggat tagtccattt ctgtcttgtg ggtaactgt 30720

tgattttaga gtttcaagta aaactgaaac agcagcaciaa ttgaactgtc cctaataaag 30780
aaaagtcaag tctgtgggtg cagacttagt tctgtgtgtt tcaggtatat ttagcgggtg 30840
gctctgttag agagtctttt cttttggtag ctgcctcctt ccctgcaaag gtagctccat 30900
ttggcatgat cagcaagcaa atggctaaga caatgagcag atagaaggga aagcattaat 30960
gtctgggtat tagcagccta gttacagatt gtactgcgtc agcttgctcc acaccccaaa 31020
gacatcaggt gactccagtt gttcagccgg gactgcaggc ttaggttgag caaacgggta 31080
tctcatgtct cagggagaat ttgcaattt acagcttttc tgtagtatg cataatttgt 31140
aattgctgct ggagggcaga tcgtggcaag aaatggacga tcagaagaaa cgttggaagg 31200
acaagggtat gtcttttaac cttttactcc tttttatgta accagtaaga tttctgtggg 31260
taagctttgt agtttagata tactcgggat tgaaagcgga gcctgtgatc atgtaatgct 31320
..... taagattaac ataaaacagc tgcttctggt gttttttaca gttgattgtg tgcaggaaag 31380
atatcatatt ctttttact ggtgtttggt ttagtaattt tagacgtgtc tgttgtttct 31440
tttctaactc tgcgcgttga aattggtatg ggattaacat ctcatttggt ggtcactttg 31500
gtgtgaggaa tgtataataa acattacatt cttctgtagt ctgtgatgac atttcatgat 31560
gactttaaat aaagctcagc tgggtgtgcct gagatctatc cctaggtttg taggtagcag 31620

aattgcattg tatctttgaa aatctaaagt gaacatttga agttcttact tgaatgcatt 31680

ttaattttta tgtaacttga aactattcag atgtatacag agtttttaaat gtatcccca 31740

atttactaac ctttgtcctt gtaataacca attaatgatc ttgatccccg tcctccccct 31800

tgaaaactca gattttttaa aatctcagt attcattgtg aagaatttaa gcctgcaaag 31860

tagtagtaaa atatcgacta ttgaatattt caatagcact ttattatgta gcttgacaac 31920

tgctatgtaa tgagagagag agagagagag agagagagag agagagagag accgagtaag 31980

caagagtga gttgtttatct gactgtctag aataagttgt cttaaaaatt gttagaactg 32040

tttttaagt gctgagataa acatttctgt agctgactag ctgcagtgac ctgctttaa 32100

acaaaaacca aaaccaatca gtaaaaaaaaa aatgtggggg aaaggtgatt ttaacattga 32160

attcatatgt attcaatata aaggggaaaa cagctgtgag cttaagaaa ggatttcatt 32220

.....

aaaaagctta ataaaaaagg acttttcttt agcttatcca taaatattaa aatgaagtg 32280

aaccaatgtg ctagcttttg gtaagtaaaa agatacttga gataataaag tgggtgagaa 32340

gccacagtag ggcccatcct gcaactttca agtctctgca tgaacgactt caattgtaga 32400

gtattaaaat gttaagctct tataagataa tgtagggata taaagacaga aattaagatg 32460

cagtagaatc tatcttttgt gatagtctta actattaaag acccttaaac aaattcagaa 32520

tcactcttga gtctctctgc cgatcctggc tttgtttgtt tgtaaactctg gtccactgat 32580

acttttcttc ttgtttttaa ccttgtctg agtaaactag accaacctat tttttcctta 32640

tctaggtgct gttacatctt agtgtttcct gtatcagctg ctaatgctaa agattatata 32700

gtgaggttta aatcagaaac cactgagatg cctgaggtga atggtttttc cttactgtga 32760

aaaagtgagg aacctaacct gaggtgtcta cacgggtaaa cttaaaatat atatacttac 32820

ttagacctgg tccccatac ctgcattctt gtgctctcag actcccttcc caaagctgtc 32880

agtagtaaca aatattctga ttcattgtctg gctttgtttt tgttttggtg aagttttaaa 32940

tgtgtttgct gtttgggtga tttttgtttt tgcttattag atatctagtc ctttaggcaa 33000

agaggtatta taattggtgt tgttacagtc ttgctatttt ctgttcatta gcagaatatt 33060

ttgacaaatg aaatctaata tttcattatt gaggttatat ggaaaactta gattaagatg 33120

ggaagacttg cgagtctagg tcagttgggg ggaagaatga cgtaactgtc agcagcagag 33180

acaactacac aagtaacca gggcaacctg caagttcttt ttagacaac accacaggaa 33240

agaatcttag gaccaaaaga agaggttaac aggaagaggt gcctgggaag aaaatacagc 33300

atactgtgct cacagttctc aaagaattgg aactagcagc aggcattgtc attttggtgg 33360

ctctcaaggt acatctcaaa ggattgctca gaaacttttt ctatacatga ggtagagac 33420
tgtctgatat gatagttcct tggatgggct caaacctaata aagataaagt caggacttta 33480
ggattgcacc aggggttagg acatgccctt ttgtttgtaa gtgggctttt gatgagattc 33540
ctaaaaaatt acagatgta agtatgttgg aattcttgat tcttagttgg taagaggcct 33600
caccagggga aggggctcct ttcccttccc aaccccatag tctttccttc ctttccaatc 33660
acacctgctt tagaagcact gagaagacac tgtaataca gtgactagaa tttcctgggt 33720
agagtagact gtataggata atgttgacag atagatttgt aggctcaaag atgatagaag 33780
gtagacggt ctaggtcagg tttcctgaag cttctctgtg gttcacaaga aagagtcctg 33840
tgatcctatc aaaacaagct ctacagggcc tggcaatctg gtgtcatcat tttataattg 33900
ggcagatttg gaaaacaatc tagggttcac accttagttc tagtatgttt tgattttgac 33960
taggtatgaa actgcctctt aagtttttat tctgttgtgt gatttatagg gttccagttt 34020
tgaggttctc tggggtttta tgacaagatg ctctgggcca ggttgtattg gtttgatgtt 34080
taaagtaggt agtaataata agtagtggtg gggtcagaag gccatctgtg gtgtagtaaa 34140
agccggagga gaacctagag gcctgagttt gggatgattt tagctatgcc tggacttaaa 34200

aaagaaaacc ttgaacatca tctgaaatgg ggatgaaaag gaagtaacag atatgagaaa 34260
aataagtga gaaataacttg atattcatca taggttgcag gactacatga attcgaagtc 34320
acgatgaaca actatctatg ctcagcatca gtagattttt ttttaaagcc aaattgagtt 34380
ctagacactt tgaatttgaa gtgatggaca tagcaagcaa tgataaagat tacaaaacaa 34440
atgcaaagcg agggtatctt ttttaaaaaa tcgaagatag ggaaggaaag ccattagcac 34500
caagcctaca ttaatggagc accaggaaaa gttagctcta acagcagtag gaggagtagg 34560
agagtgtggt ctcaccacca ggacaggact ggaggtctga ggaggactgg ctgtcaagaa 34620
actgtttaga atgaagataa agtgattgca gacgctcaga ttttaggaga aagtcagca 34680
ttgcccatgt ttgctagtgc cttttagat tgggaagctc agctggcctt tgtgagaact 34740
ttcagtaaca ttaaaattca gtttgattat gcttaatgac aaagtggctt tgtcatcata 34800
tctggtgcat tcttccttg tggactcttt agggcttcct actttgcctg gaagtcaact 34860
gccaatctta ggaagaaacc tgcttttaat tctatctaaa cttacctaaa actcagtgt 34920
acttgacact tcattgtgtt tttctagatt ttttttttg attgttgta agtagcagga 34980
ctgtgtgttg tagaaaatag agaatggctt tgggttttta ataatgaagt aaggaactag 35040
aagattatat tatacattgt attctgtaat cttgaacaat ttagtagata tttccacctt 35100

taaagtcact tacatcactt taatatgttg ctggttaaag tgagtaaaat taaattaaat 35160

tctgttctta ttcatgggta ttgttcagtt aatgaaaatt ggggttaata catgcttgca 35220

gcattgcttt tcagaaaaat tgctttgagc aacgagttat tgtttgtctg ggagccatgg 35280

ctaaaattaa ttctgatggg tttaacttta ggaattttta tcagttttta gtaaattaca 35340

gaaacaggtt tgcatttttt tttcagaagt gaatgtatat atgttttcag tggttataga 35400

gaaatataat aaaaaaaaaat cttcaaggga tatggattga gaccagtggg ggaaatttat 35460

tctgatgctt tccttattta cccctatctg aatattcgta ttttttttaa tcaggactgc 35520

taactgatct atacttcatg tgatggctga attgaaatta tcttcttcaa gaacagttgt 35580

aattgtgcca ttgcaagagt ttttctttgt gtttcaagtt caacttatac tgatgacct 35640

tggctaatta taaaggcatc ccatgactca gtcctagctt actcccatcc ccacacgacc 35700

ctgaagggcc tgctccatca acatgcctgc tattttattt ctctgatttt acctcttaca 35760

ccttttcttc caatttttat ttigaccatg cagtatttaa gacacattct tcccagatag 35820

acatgatact ggccttcttt aaactcttct tttgagttgt gacttctatt ccattacata 35880

tgggctttat gtctgtaaca ttctttaag gtaaaaatgg tcctttcctc ctgggcctcc 35940

tagttggcat gcataat ttt tctataaaat gacagacata tttaatgggt tactccttgc 36000
cttgaacttt gtacatatat ttcttttttaa aaatgataca tccccccac cccattggg 36060
gatttaggat tctccttttt tcttaaagga gcaatgaaac aattaagact cgtaggagtt 36120
ctgaaagata gcttagcagt tataagcact ggcttctctt gtacaggacc caggtttgat 36180
tcccacatgg caactcaca ccat tttgtaa ctccagttcc aagttccagg gtctcctaca 36240
tcctcttctg cctccatag gtgccagggt tacacatgggt acacaaacta aatgcaggca 36300
aaaatacaca tgtaaaagta aatacttctt aaaaagaatt ttagatttca cctgcagata 36360
atgagtcttg tcatttacat ttattgtaac catttagttt tatacataag gaaaccaaga 36420
aaactaaata tgctagggtta tttgcataga ccttcaaagc tggagtatga gaccttgatt 36480
ttatagtttg tatgagaaca accaaggagt gatgaggaaa aggctgaaaa ttggcccatg 36540
ttgtgataat ttattcatgc atagcttact atggcagctt tttgtatgtg gtaccattta 36600
ccacttactt tttttat ttt atgtatatga gtacactata gcagtcttca aacaccccag 36660
aagagggcat cagatcccat tacagatgggt tgcgagccac catgtgggtg ctgggacctc 36720
tggaagaaca gtcagtgcc ttaactgctg agtcattctt ccagcccctg gttctcactc 36780
ttaagaaaaa aagagcagta gtcttagtat caactgtgga aaaaggtaga tgtgggttagt 36840

agtattactg aaacttctgc tgagcctgtg atataatttc tcttaaggac tggattccgt 36900

acttgctgta ggaagaacat ttcaacagtc aatagaattc tctttacttt ttcttttttt 36960

cttttctttt cttttttttt tttttaactt aatctcatct gttgctagaa tttgggcitta 37020

agggtgttga gtttaattta gtttaattgt atgcagtcctt ttataactaa tttttataac 37080

taaaaattgt caaattttgt gcaaggagtg tttaggagta agtaagtaga tagatacata 37140

gagagaaaat acttagcttt aatttagaat ggtattacat gtatggactt tactatgaat 37200

ggaaaattat accatggttt agagaaattg gaaatgtgaa gttagggata ttttctattc 37260

tgtttttgta tattgatgcc cccaacatga aaattttttt atgtgtgtaa gtgtgtgggc 37320

tctccatggt gcagtgtgtg tgtgaagatc ggaggatgac atctatgagt cctgtgggtc 37380

ccaggatatca gactctgggtt attcaacttg ttgtcatgtg catcagtttg ccagcccgtt 37440

ttgtattgaa agctatatga actaaataat cagtggtttg aattattaat gagtcaaag 37500

tggtggtagg agcttactat tcttattttt taaaaagtt gtttttaaaa tagggcttta 37560

aaattgaaac ctgacttcaa gctaactica ggctaagttg aatgtaaatt taaggaaatt 37620

catttaagga aaatgtaaca ggatgacttg tgcatgtaac acatttgatc tagcactatt 37680

tttagctata gcagatgaca gcctgtgatt accaaatgta ggcagctctt ctttctttgt 37740

accaagtcag tgaaagaaaa actgggttcc tttaaattta aatttttagtt aggtaagggtg 37800

cactatacaa aataatcaaa agttttctat attttttaat ttgaaaaca aagataaact 37860

gcagggaaat gaatctattt ttctaaatta tttaactaga ttggcataaa cccctatgtg 37920

tttcccatag ttgtaaggga aaaatcactg ttcagttctt ctgggatctt taaaaggggt 37980

gttctatgaa cattttatat gagttagaaa cttccttata aaaacatgct ttatccaata 38040

ttttcataag aatttcctgc atgtgagtg gctgcctgcc tgggtatgtg tgtatcacac 38100

gtctgcctgg tgcccatagt ggccagtaga ggagctagtc ccctgaactt catttacaca 38160

ttgttgtgaa tcacagtggg gtgatagaaa tcaaacctgt gtgtttctaa aagagccttc 38220

tctctagcac cccttatcag atatttactt tgtatttcct cccattttgt agattgtctt 38280

caccttcttc attatgtcct ttgaaacaaa atattttatt ttaagaggct cagtatattt 38340

acttttcttg tgtttatgct aataccatat gtttaagaaac acagccttga agatctacac 38400

tttctttatt cttttaacta aattgttatt tttaacagct acccttcattg taaacatgtg 38460

taggaatgtg tatagaggtc aaaagacagc ttatagggtac taattcttgc cttctacat 38520

gtggggctag gagctaaaat gtcttagcaa gcttggtggc aggtgcactc agccattttg 38580

ccaactgtct aaaagcattt tatagtttaa actccaatct ttagattttt attctatttt 38640
gagttaaaac aatattttgt catctttaat agtgtgtttg tcatgaatgc agatagctac 38700
tgtggctaga gtggtcagat cctctggagc tgaagttaaa gagatttggg aaccattaat 38760
ggctgagcca tctctctacc ccataagtta accttcatg tcatataaag tacaggaatc 38820
taaggagtcc agtggcattc cctgcagtt ggacatccag ttgttcttag cttccttgtc 38880
aaattcacct gactataaat ataaaagttg attgtatttc acttatgttc ctttgtaacc 38940
atgtatatga ctgtagggtc gggtttatgt tttgttttct ttttttgaga cagaagcttg 39000
ctatgtagct ccaactgact tctagcttgc cattctcttg ttactgaaag ctttgcagga 39060
aattttgcag aggagaaatg tgagcccttt aactttatta ttgttttcca ggatttcitt 39120
ggttattcca gatataattt ttttcagctg tcttgtcagt tcagttggag acacaagctg 39180
ggcttttggt ttgatgggtt ttgtacttgg gactaattag aggactgtta tatgtcatcc 39240
aagactgtgt gatatctttc tgcttgattc agccattaat ttcttttaac tgtaagtttt 39300
cggtttatit catttgtttt cagctatgta tgttcctagg aattaaattt tttgtttgt 39360
gaatgttaac tgttgttttg aaagtctgtg ttaagtcaga tgcagttggc tttgtatgat 39420

gttgtagacca caatgtcact agacttggtt aggaattcta gttgctgttt tgggcttct 39480
ttaggaaatt ctaaataata gatcatatta gcaacaaata ccttaattta tttttgtcca 39540
atcaattcat tgcccaaatt ctggtcaaaa acttctagga catatatggg tgtgaagtgt 39600
caaagagagg ttacccttgt cttattacta ggtttaagt ggaagatgct agtcttgcag 39660
catgttcact gtgattttgt agattttatt tttgatcagt ttgaggctaa ttcttttttt 39720
ttttcttgct gttttgttga ctgtttacca tgagatgatg ttggacctaa tcagtttttt 39780
atgcaactat tgtggcgagt gtgtcttatt cctattttgt ttttatgggtg catgtgtggg 39840
ttgttattca tatgttgcac tacctttgca ttctcagaac agatcctcct aagctatgct 39900
gtaatctggt tgcattgcag gatcttgact tgtaaatggt gttatgggtga aatcactggt 39960
ctgtatttat acgggatggt tatctgtact taccctgatg tctttgtctg atttgggtat 40020
ctgaattgaa caatcttcta aattaactaa tgatataagg ctctgatgag ttatcagagg 40080
catgtagata ttcttttgga tttttgtatc cttttttccc cccatggaga atcactgctc 40140
ttgggcgaat ttaatcttcc taatttaaaa aaaaagtaaa accaacataa agagtccata 40200
tgaaactaaa atacttttga caagtatgaa aacagacaac tgtttttgct agaaatttgt 40260
gtttttcttc tttgcagctt cactgacaaa ctctttacaa aatgggattg aaaatgtatt 40320

agtgttgtc acagtgttt ggacgatgga ttctgtcctg tgtgtactta cttaccactg 40380

tgtagtgtc tcacctcctg cctgtacttc cctaattggc tcaagagtat ctcaacttct 40440

gcattcctag gacttacttc agcttgacta atccatagtg tgtgttttga ggtagtcatg 40500

tgttttcatg tggatatctgt gaactttcat gtatgacttc cagagttctt acaattattg 40560

acaagatctg actgcatctg atcatttatt aaattatcag gcagcattgt tctttgtgtg 40620

tatgagtgtg tatgtctctg cacatactgg tatgtggata tggaggctct aaggcagcct 40680

tgagtgggtg tacagagaca ggatctctta ttggcctgga gctggcatat gagttggcct 40740

tttggccaat gagccctaga atctgcctct ctctgcttcc ctgacatgag gattacaagt 40800

gttggccatt gtgctggcct ttatgtgttt gggggttggt aggtccctgt accaactgag 40860

ttgcttcccc agtccgtggt gttcttatag taggaaatcc tactctacca ctcatgaa 40920

ggggattaag gcagtatttt gtgattataa attgtggttg ccaactagcat gagactgttt 40980

caagtagcac agaaatgtat aaagaaacag gtaagactta tctataatcc caatattaaa 41040

gaagtaaaaa tatttagtag atttttttca gacttaatgg ttagacatat tttgtttgt 41100

tttgtttgtt ttatatgtag cccaaaatgg ttcaaattc actgtttag cccaggctgg 41160

ctttgttctc ttgattcttt taatactctg ttttcaagtg tcattatagg catctttatc 41220

tttctttaca gaccagtttt tccattatac gtatactagt tttaatcaaa ttcatactac 41280

ttttaaaagg tatittcaaa aacttgatgg gacagtgaga tagctcagtg ggtaaaggta 41340

cgtggcaccg agtctgacct cctgaattca atccctggaa cccacatggg atagaaaaga 41400

actgactccc acaagtatct cctgattgcc acacatgtac cgtgggtatgc gcatgctcac 41460

ttcattcaca agtacatgaa aagtgactgt ttaaaaacct aattatactt ttttggctct 41520

gagaagtact tgttaaataa atgtattgct cttagctgcc ctgtcattgg tgtgtaaata 41580

taggtatcta tgctggctag tataatgtcaa cttacacaa gctagagtca tgtgagagga 41640

gagaccctca attgaggaat tacttctttc tataagattg tctgcagagc attttctcac 41700

gtagtgattc atgggagagt gccagatca tttgggtgat gctatccctg agcttctggc 41760

cctgggttct ataagaaagc aggctgagca agccatggcg agtatgccag taagtagcac 41820

ccactccatg gtttctatat cagcttctag tticagtttc ctgccttatt tgaattcctg 41880

tcctgactta ctcaatgat ggtctataat gtgaaagtat aagtcaaata agccctttcc 41940

tccccaacat gcttttggtc atgggtgttc accttagcaa tagaaatcct aactaggaca 42000

atatacctata tcttgtaaat ttcacataga cattcttctt ggtctttgtg gttcatttta 42060

catacaatga ctcttagtct atgttctgcc cattcatcaa acatgcagat gtacaacaat 42120
ctgaagaact tgaatatgct gacccttttag tttatgcaca ggggtgcttta acaatagcaa 42180
gtctcattat atatttatca ccttccactt ctaaactgia aaaagctttt tgtacagttt 42240
ttggtgttct cataattaca gttatgtaca attgcttgaa aagtgatatg attaggtact 42300
tactgatttc atgaagttta tgtttggcac atagtaatgt ttctgagaag gttcagttta 42360
aaacacttaa gcctcttata ctcagaagta tacatcttaa aaggagatct attttaaagt 42420
tgcagcaagg cataggctaa tgccaatagt aaaagtttat tgattaggac ccactaataa 42480
taatttgagt gtaggacttt gtattaagta ttaatcatgt tagcctctga agggaaaata 42540
aattggaaga cttactttgt tgaagataaa acttaagtca agggaggttc aagtctcact 42600
ttaagttaca cagttgcaga gctagtacca ggagggtgggt ctctgaactt agcctcttct 42660
ttctactata ttactagta tagaacctgt agattaatta aatcttgagt aatcaaaacc 42720
tttgaatttt ctctggtttt tacacatgga cacagacact tggaaagatc agttttaatg 42780
taacagtgtt ggatgctctt aatgaagcac ggtgagtgca cgtgcattta tttgataatc 42840
ttaccagtag ggatactaca aatgaacaaa tggctttgag tgctttgaga ccactcatct 42900

ttatatgagt attttgctat aaattggaag aaaagtccgc tgattgttca gttctgggtt 42960
ggtgttatct taaaatgtat tattgtgtat atgtatttag gcatgattgt gtggagggtca 43020
gagggtcaaat ttaacatttg ctttcttcca cttgagtttc agggaatcat tagcaagtac 43080
tttttccatt tattttccct gtgtgggggtt ttgtttgttt gtttgttttt ttcgagacag 43140
ggtttctctg ttagcccta gctgtcctgg aactcactct gtagaccagg ctagcctcga 43200
actcagaaat ctgcctccca agtgttggga ttaaaggcat gtgccaccac tgcctggctt 43260
ctgtgtgggtt tttaaagtga catgtttctg tgtaacatca tagttcaggt caataacttt 43320
atataatggt gaagttatcc cttttaagta cctagaaata aaggtgattt atttgggggg 43380
gggcaatatt agtaacacaa ctaataatcc tgagtcctat attaaatact ttaacttatc 43440
attttattga tagaaaaatc tcaattcatt ttcctcattt aatgaatccc atctcagtga 43500
gacaattcct atttttatat atagttaa atgagtgcta gaagcgtaga agggtttggc 43560
aacttgcctg aggttacatt gtagtaatt ttgtgcttct gttggagtct aggtcaccta 43620
gctctagagc ttgactctg ggcttatata acccactgtt agagcacaca agggaatctg 43680
acaggaatta tgctgccact gctgtctatg tcatgtcact cactaccctc actaccttcc 43740
ttgcattccc aacagggaaa gatgacatta ttagcttcgg gtagatgtga gtcctgccag 43800

tttccctgac tttttttttt ttttttaa atgagtagac tgactcttct cttcagacta 43860
cactctcttc agacacacca gaagagggca tcagatccca gtaaagatgg ttgagccacc 43920
atgtggttgc tgggaattga actcgggacc tctggaagag caaccagttt cttactgct 43980
gaaccatctc tccaaacccc tggcttctta atggcagctg gattcctctg tttcagagtt 44040
tttaaatttc tttcagcgtc ttttacctcc cacccttgat ttcctagtag agtgtaatat 44100
ttactttaaa actttactga gtgttctaaa tcaggtagtc cttgaaaaga tatactttag 44160
cattttagaa ttgaaaagag ccttaaaagt acatttccca gctttctgct catttacta 44220
ggctgacttt ctgtttttgt tttatgatct tggtatatat acctggctgg cctggcattt 44280
gctgctttta gtctgggttag cctaaaacgt gcaacactca tgctcagtct ctcaggtgct 44340
agaatgccat catacctagc tcaatgtgag aaaactattg atattgctgt gatctctttg 44400
ttgactgcga tggtattttac agtatcgttt tgacagcaca gattaggcta tttcaaggtc 44460
tggtcagtc tcagatgcat tggtaggaac aagttgcaca catcagaact gatgtaggtg 44520
ttaatagatg gaggttaaga tcatagtgtg aaagcaatca gtgaaacagg ctgtgggtca 44580
tacatggaat ggatctggcc caggatatgc acatgctagg catatacact ccaagcccca 44640

cttactaagt gcttaatata tatactccaa aggtggaatt aaacctttgt aataatactt 44700
agtgttttat agcttacgta atttttctta caatgtactt tcagtgctaa atggaagcca 44760
tgctcattta ggatcctggg gatcaaaacc aatgcatccc tttgaagtgt gacttttaaa 44820
aatgttactc ccittatctt aaagttagca ggagttctac ttgagtagtt ccctatttgt 44880
tttaccataa agtgtgtgga gtttttgttt tgttttgctg ctcttggttg gtcaccatct 44940
agagaggtga atactgigta gtgtgtcaaa gagtccttcc ttcagtgcac tgttgaggat 45000
aatctcaaga gactacaagc ctgtggttat ttgagccttg cagtagcttt gtttccagtg 45060
gccaaaagca gacatggtaa attgtctttg tctgactcta taccaaatgg tatggaatat 45120
tgtagtatgt aagattgggg gagtgtcttg tttgtttgac agcttttgtt ttttgacccc 45180
tgcagttttt atgacttttt tcttctgttg aaggaaatta gttttttaga tgtctgaatg 45240
ctgttccccc tttatctttt attgtaggta acttcagtta gtactaggct aagatatcat 45300
tttaggattt tcaaaggaga gcttctaaaa gccaaagctgt aaatcttagg tgctcagctg 45360
ctaacatttc aatttttcac ctttttttc tatagatttt tattttattc ttttgtttt 45420
aattaaatca ttagttaca tattttatgt atatgagtac aatgttactg tcttcaggca 45480
caccagaaga gggcattgga tctcattaca gatggttgcg agccaccatg tggttgctgg 45540

gacttgaact caggacctct gctcttaacc attgaaccat ctctctagcc cttcaacttt 45600
ttaaaaaatt tgatttccta tacttatgtc ttacaatagt ccttttcgta tgtactattt 45660
ccctgtaatt tgaatatcat gcatagtatg aagaagaaat gtctcaagat aattttaagt 45720
gagctctgcc aggcctaaga agtatataag ggtaatttgt agctagaatg atttggtcac 45780
tcaggaggga ggttggccca aaagaaggaa aagtacaaac ttagcatttc actgataggt 45840
agcttatact gggtttaatg ttttagtgtg tttcctccgt gaagaacatg taaatgtgct 45900
aaatccaaat ggtaagata gtattctaatt ttcagacttc ttcttttaatt ttttagttgt 45960
tgacctcctg tactggagag acattaagaa gactggagtg gtgtttggtg ccagcttatt 46020
cctgctgctg tctctgacag tgttcagcat tgtcagtgtg acggcctaca ttgccttggc 46080
cctgctctct gtgactatca gctttaggat atataagggt gtgatccaag ctatccagaa 46140
atcagatgaa ggccacccat tcaggtgaga tgtttgaaaa atgaggcaac agtgtaacta 46200
ggattggttag tgagacttca tctcctatct gtagaattat agttgtgtga tttctttggt 46260
gcttagagat aatctatcaa gaacatatct gcctttgaga tttcttatgg tagaaaagac 46320
tgggctcatt agtatattata gtagatatgt gttatcacag tgaattttag aattggtgaa 46380

gttatattgt tcttactgtt tacatttaac actatctaac actatatacc ttttcctag 46440
tatatgttct tacctacatt tgcttcagtt tctcagggtt ttatacagag agaggagata 46500
acttcaaatt gaagcttcaa aatgacaatt atatgccatg aactattgac aaataggatt 46560
ttaaagcagt tgtaatgaaa tacatgaaaa tgttacaaag ttctaattta tccacagtat 46620
tagttttata tatcatttag ttttaaagaa ttttgaaga ctgccagttt cttttttttt 46680
tttttttaa tttttcttt tagacatacc ttttcataa aggcatttac agtcttttac 46740
aaattcagct gacgtgccag tttaggcctg gtgaacagct tttcagttgc ctagtcatac 46800
tggtgcagtt gaaattatac agtggttaaga gggaacagtg atgagcagca tgttaaaatt 46860
tgtcatacaa atgtctacca ggtggcactg atgcaggatg ctctcaaaga acaagccagg 46920
tttttttttt tttttatatt tctaggaatt gtatagacag ggctcagaag atggctttgt 46980
gggtaagact tgtggaaaca ggagggccag agtaccacat aaaactggtc actgctatat 47040
ggatgtctat aacccaaatg ttggaagtca gcaacaagta aatcctggga actcactggc 47100
cagctttgcc aaaaataatg gacttcacgt ggccccacat atacacatta aaaaaaatg 47160
cataagtaac ttcttgctgg ttgaaagtt gatgggaaac ttgggatgtt ttaatttgat 47220
atttatgaat aacattggta taccagtatc tcctgctgtt gtaaagaagt ggtctaaata 47280

gtctgccaac gtggggaact atgctgtctg cattcagagc tggatgtagc acttaataat 47340

gtggaagagg acataaatca caccgggctc tgcggactca gctctgacca gtcttcatgt 47400

gtgggtgggg tctgaggtga ggctagttca cgggataagt tgttatcaca ggaagaagt 47460

accttcgctt taggaaagaa aatagtgtga cgaccaaggc attatggttt aaaaaatgtt 47520

ttaaaatgat tcataactta tttctagctt taacataggg agcagtggga aggtgaccaa 47580

aattaggtat gctctctgat ggaatcagag taatacattg ctgaagtgg acatgattcg 47640

tcatctaadc tatagagttg gaaacttgac tcagagaatt gaaatgcttt ttttgcaagc 47700

ttacttagct agaaaatagc caatcttcta atgcttacct gagcttaacc tactctgcta 47760

ttttaggaag ctcagatagg ctaatctggt gttgatgcag agaaaacagg cttgcacact 47820

gatagagtat ctcagtgtgc aaataataac agatacttaa ctaacaagag tgagtgatca 47880

ggaggcacat ttgggccata ctgcaaaggt agtagtggag atagggttgt ctcagaggac 47940

actgtgctag gaaataatag gattagttag gtatggtgaa tgatcatctt gaaataatca 48000

aatgatcatc cccaaattgt tatcttgta aatttaacac ttccacaca ctatagcata 48060

caagagagca tgaaaataga gagtaaatat taccctttat ttattggtat tgccactgta 48120

ctttaagcag ctatittaca tgctaataatt taacatttga catttttcca taaagtgaat 48180
atggaaatga gtaggatctt tggtagcaga tcctaataag actcagaaaa taattttctg 48240
agtgatctgg aggccaagtg tcattaaaca ttttactcat taaatcctca tgattaacgt 48300
ccatttaaaa tgagaaaaca gttttagaag attaaatttg cacacttaga ttactaagaa 48360
aatgatagca gttaaaattt aaaatgtctt taaaacacgc ttctatcagc ttgggggttt 48420
tggttttggtt ttattttggtt tgagatatit ctgtagccaa agttgggttt acactagtaa 48480
caatccttct gacttagcct ctcaagtgtt gggattacac gcatgaacca ccacagccag 48540
cttactttgg atttttataa taagtgtagg cctttatagt agattgttct acactgttaa 48600
tctcttttat agatctgtga ttgctgattg acatgtgaga atcagtgtca gttgaggatt 48660
ttttcttttt ttcttttttt aaagggcata tttggaatct gaagttgcca tatcagagga 48720
attggttcag aaatatagta attctgtctt tggatcatgtg aacagcacao taaaagaatt 48780
gaggcgtctc ttcttagttg atgatttagt tgattccctg aaggtaagtt tattttgctt 48840
ttcatttaca tgtatcagac agattggcaa tataaaattc tattttctct atccaaataa 48900
atcataaaga tgaaatgaaa tcatatcaat gtaaatttag gtttgaaaac tcagtgtcct 48960
gtgttttagat ttgtgtgaga actatagttt gacacttttc tccttcaggg aatactttta 49020

gaaagagaaa ttgagaagaa aattttgctt ttgattgtgg gtttaaaact caaaactcaa 49080
gaaaagtggg ttgattctgt cttcggatgt aagttcatgc ttcattcatgt cagcatacga 49140
agtgaaccca aataggtctc atagtgtact tcggcaaaaa agtatccaag gagctaaaga 49200
gatctgcaac cctatagggt gaacaacatt atgaactaag cagtaccccg gagctcttga 49260
ctctagctgc atatgtatca aaagatggcc tagtcggcca tcactggaaa gagaggccca 49320
ctggacaggc aaactatatg cccagttaca ggggaacgcc agggcctaaa aatgggagtg 49380
ggtgggtagg ggagtggggg ggagggtgtg ggggactttt gggatagcat tggaaatgta 49440
aacgaggaaa atacctaata aaaaaaaaa gagtaaggca gaatgttttc ctttagaggc 49500
gacaggtaat aaacattca tcatttaggt gacactctac aggggaagggt cttcctgggt 49560
gaatggggct ccactacatg agactgcttt cagcatgtat atgggtatca cagattccag 49620
ttgtttatga gtccaggata tttgtcttaa aattcaccaa aaatgtaagc agtcctcaag 49680
tggttgtggg cgaggcatga tgacacatgc cttaatttc accactcaga gagcaaagtc 49740
aggggggctc tctgagaggt caagggtagg tcaaagtctt ggtatcaaata aaaataaata 49800
aaaatagatt gtagcactca agagtctgag tgaagtttta caggtagtat tgcctttcta 49860

aagagagttc ctgcatgtta actttatatg tgtggttggtg tttatctatc atagtttttg 49920

tttctatgga aaagcaatgg tgttccttct gggaatggac tcctaatttg aatttttttt 49980

aaaggtgcta tgagcttttg actggaattg ctttgatttc tagttaataa aatggaaaca 50040

ttttaatttc tagaaaaca attgacataa tagacaaact ctgtagcttt gacaacagtt 50100

tttaaagaaa catttgcaag cagtttatct catacattat cagctctctt aggtgtcctc 50160

agtttataga atggtagatt ctaggtccca gtatcactta catttgaaac ctctgtaaatt 50220

attgagtca ctcttgcaaa cacaatgcag caaccctcc cctgttccta ctccctttta 50280

acttcctttc ttctttccct ccagaatgag ggaagagttt ctttgcggtg tcatcaaaga 50340

aataacagat tccagggtc tgccttcagt cagcacctga gatgaactga ccacatgaat 50400

gtacctggtt tattcctggt agttgacttg ggcaaatgaa aataggatat attgtcaca 50460

gttctgtact aacttcctgt ctgcttgctt cctttgtttt gctcctctga aataaaattt 50520

aagattttta atcctagaca agatttcaag tatcatctat aaagtaatca attatccatt 50580

ttcctatttt atgggcccaag tcagtcacct ttgaaataat tcttgatcca ttgagaaagt 50640

agcttagaca ttaaatactg tctacgtttt agggctattt attcagtttt aacacattgg 50700

gtcttaagat gggcggtggt attataggca gaggaaagta gatctctgag ttagagtgct 50760

gcccagtcta gggtaagttc caggacagcc agagctgtac agagaaaccc tgtcttgaaa 50820
aactaaaagc aaaaacaaaa aacaaacaaa aaaccccagc aaaaccaaac aaaataccga 50880
gaaaacattg ggtcttccac tgctgcagca ttgccaggc tggctctgag caccacagat 50940
gggtagtaca agtatcacct ggtgctgtga tagggatggt tcttatttgg ctaaggatta 51000
agtaagtatt tttgtgatta atctgtgtaa ggatctttgg tgaggactct tgttctaaaa 51060
agcagttttc attcatggct gcacattgga gtcaagtga gaggtatatt ttatataaat 51120
ttatctggga aagtgaagga actggagttt ccattccctg aaggtctgat ttaatttatac 51180
tgagaacatt gaatgggtga tgactgtttt agaaagctat ggcataaccc tatttgtccc 51240
tacctccagc ctgaccgtct gtcctcccc tcctcttcc ctcctccct cctccctcc 51300
ctccctccct cctcccttc ctaaagtat atcaccta ttggggtcac ctttggcacc 51360
cctagagaga agcttgaagc tttaacggga aagctcctac cttgtaagcc aggaatgtgc 51420
acacaaatcc tctccctcgc ccccatgta tgtttgtgta tggagggaac gcattcttgg 51480
atacttagga ggctgaggct gggaaccact tgaagccaga ttaacactac catctccaaa 51540
aagtigggat cttgcccgtt gaaacaccaa gtccaaaaat ttcactaat agggactaag 51600

actgggcaat tttagtgagt tcctatgtat gcctgtagca aggcattggg tgctaaagac 51660
tagattttat atgatagtag atctctgact tttagtga aaattgttcta gttgaagttg 51720
cctgatatgc aattatgttt taggatatga ttttttcttt ttattggttc tttggtcaca 51780
tcatatacc cagttccact gatttccttg ccctctggcc ttgcaaattt ccttccaaaa 51840
taaaatttaa aataaaacaa agcatagaaa acatctcact gtgaaagcca tagcgtgccc 51900
cacagtatac cttttgtcc ttacatcttt acttgcaaat gtcatttca gtgagtcatt 51960
gcagctttgg atctgcagga ccagccctgt caagtgtcc atcaggatcat tgaggaggtc 52020
aattttggag tgggccaact cagagcccta gttctgggct tgagtgatgt ctgagctggg 52080
ctgttggccg ggtgagctct ctagcacctg caccaatagg gcaagctctt cagcattctc 52140
ccagctagct caccagtggt tgtaactggg gaggagcaga gccaactctc ctgctctcgt 52200
... gaccctgggg tcagctcttc tgactgctat aggttgtgag aaggtggagg gcatcactcc 52260
agtggccaag gcacctcatg gcaggcaagt ggtggggcta gctcttcagc actcatgccc 52320
tcaggtaggc tcaccacag ccagggccag ctctactgta ccttacctaa gtgaggtaca 52380
gagcctcagg atataatctt aagtctgggc agagggtcct gcactctaaa aatagctgat 52440
gcaaaagaac attcaaaggc tcctatgctg ctgtgttaac atgtacattt cagtatgtat 52500

gttttctgac atgtttcggt gacttagaaa aaaattgaag gaaaatgtag aaacagtcaa 52560

gggaatacta gaaaatgggt taatgtttct agaaaaggta aaataataat ttccattggt 52620

ttcaagtttt taagtagcca aaattgtcaa agtatctgaa aatctattgt gtgcccctct 52680

attttcctta aatatgtgtc ttccaccaa taaagctcta cagagttttt aataaggcgt 52740

gtttaaactt tattccctta tactcgtgga gaaaaggcaa tggcctctcc ccatgtgtat 52800

tgcatttcca tacacttggc ttgttgcagt cctagtactg tcaatagaga acatgacaga 52860

caagcttggt ctcagacact ggccatagct gagaaatcct ttccagagat ctacaccag 52920

gcataacctt gatttgtgac ttagatgaag aaaaaacttt cagggtgagg tgataggaag 52980

tacaatttat taaaattaag gccaagtggc cagaaaggaa gtgctttctt ttctccatt 53040

gttgaaagct agaccgtgac tagaagtaga agggcagtgt gtccttcctt cccatgctct 53100

ctgttctgag ggaaggcagt tctgctctat catggcttct aaagaaagtg aatcaactcc 53160

catttttggt ccttaggttt ctgaagtaag acaataaata aagactgact ttactggggt 53220

ttcaaggtct gtgcctgtta gactggcatt taaatgtata tgtttcagaa gaaagtttaa 53280

ttttgcttat catgggctct tgtttgatta cagtttgcag tgttgatgtg ggtatttact 53340

tacgttggtg ccttggtcaa tggtttgaca ctactgattt taggtaagtc tacaaaaaga 53400

ttgacaagca cttagggaca ttttagaga atatctttat tgtaagaaaa aaaaataaaa 53460

atgtgagatt gggagatggt taagtagctg atactgtttt attgaaatgc tatgttagct 53520

cctgaagact actccagcta acagctgcct taggtgcact cttgagctta aattggggaa 53580

gctgtatttt atagaatctc tgtgatgtga tttgaagcta agcatgggtc cttcagcaca 53640

tgcaggagaa tgtgagcatt tcccaggcct caggagaatg tcaacattta tgtaggcttt 53700

aagagtactg tctggttacc ttgattacta ttggcttgat agtatgatgt tgactcctag 53760

aatggtacca gtcttctttt tttttttttt tttttttaat ttatttttaa agctctgtgt 53820

ttacttttc agctctgac tcactcttca gtattcctgt tatatatgaa cggcatcagg 53880

taatttctta actgtggaga ttgcagaata tagagctcac tcttattata aaggacttag 53940

agctagtctt tagtttggtg gtatgtagta ctgattgata ttctttggca atattaattt 54000

tataatgctt ttatcctctt ttctcaggcg cagatagatc attatctagg acttgcaaac 54060

aagagcgta aggatgccat ggccaagtga gtatgccctg cagccttctt accaagggcg 54120

agaccatcat ccggcagtgt ccttctgagg ccagcattaa ctcttttttaa tgcttttttt 54180

taaaaaacat taggcaaagg tggaaaatta gtttgtatit tggtagctit atgattctct 54240

aaataatata cagcataacg ttttttaaag aagtgggaaa caaacacaaa atttgacatt 54300

tttctttttt catttgtaga atccaagcaa aaatccctgg attgaagcgc aaagcagaat 54360

gaaaaggccc caaacagtag acattcatct ttaaagggga cactcccttg gttacgggggt 54420

gggcgggtca ggggtgagcc ctgggtggcc gtgcagtttc agttattttt agcagtgcac 54480

tgtttgagga aaaattacct gtcttgactt cctgtgttta tcatcttaag tattgtaagc 54540

tgctgtgtat ggatctcatt gtagcatac ttgttttccc cagatgaggc acttggtgaa 54600

taaaggatgc tgggaaaact gtgtgttata ttctgttgca ggtagtctgg ctgtatttgg 54660

aaagttgcaa agaaggtaga tttgggggca ggaaaaacaa cccttttcac agtgtactgt 54720

gtttggttgg tgtaaaactg atgcagattt ttctgaaatg agatgttttag atgagcatac 54780

tactaaagca gagtggaaaa atctgtcttt atggtatggt ctaggtgtat tgtgatttac 54840

tgtttagattg ccaatataag taaatataga cataatctat atatagtgtt tcacaaagct 54900

tagatcttta acctgcagc tgccccacag tgcttgacct ctgagtcatt ggttatacag 54960

tgtagtccca agcacataaa ctaggaagag aatgtatttg taggagcgct accacctgtt 55020

ttcaagagaa catagaactc caacgtaacc gtcatitcaa agatttactg tatgtatagt 55080

tgattttgtg gactgaattt aatgcttcca aatgtttgca gttaccaaac attgttatgc 55140

aagaaatcat aaaatgaaga cttataccat tgtgtttaag ctgtattgaa ttatctgtgg 55200

aatgcattgt gaactgtaaa gcaaagtatc aataaagctt atagacttaa aacctttgtg 55260

tttagtggtt tagtttcatg aatgcacagc aaaaacacgg tggtaggctt agagagtgga 55320

cacatggtaa catgctttta gaaaggtttt agttcatgaa acagcttaag aacaaagaat 55380

atatttcat agtgagattt atttgactca taacaaaagg ttttaaatta ttttatactt 55440

tgaaaataaa ttcatgcacc aatattttaa cagaatacag tgcaagattt atgaatatac 55500

ataaaattac accatataaa ttttaciaat aagactttca aagtctttat aacagacact 55560

attgctcttc aaatatatac atatatcatt gattagtcag ttgttcatcc acatggttac 55620

ttaatgcaag atctgtctga atgaaatgtc agtagtacia gacaggcaga cacagtgatc 55680

actcagcatc accaggtaca gaaaacagaa tcagggtctgc atagggtctt actgaggacc 55740

cagcaacctg ctagtgggtt gatgtaaggc attaataagt tggcgtgtaa aatagcttaa 55800

tgtgtaatct aattctttta gaatgctgaa gcacttctgt ggtaaagtgt gataatctat 55860

tctttaactg aaaatgctta tttcaacctt tctctaaaat ggcaacttca tataactaga 55920

aactcaaggt ctagaatttt agtgcacaga ctggaaggac tcggtggtgt gtgtactcac 55980
gactccaact cccatcagcc ttcttaacta atagtcgtca agtcacattc tgtccgacaa 56040
ctgactggag aaactcaaat actccttaca gtggggaata tgttcaagag gtttttaaaa 56100
atctgaattt accctgcatt aatcatctga aatgagcaga gccaaagccag tcctacccaa 56160
gagggtgtaa actaaacagc aagacagctc actcgtcaca ctggagcttt ccctgctttc 56220
cgtgttgcta ctttctgtgg agctggactc ttctttgctg ctcaccttat aactgctttc 56280
ctagagcagg acatagtggg gaatttgcta atcccatagc cctcctcagt tttgaagttt 56340
tagcaccatg tgaaggaaga agacgacatg ggaggtgagg cagcagccca cacaactggg 56400
aactttgaag gcacttaatg gatataaaac tgcaaatgaa actttttaaaa attaacattt 56460
taaaacttgt ttatacatgg ctcatctagt tttgaaagct aaatgtggca aacagggtat 56520
ttctgtactt aagtgcctcc aacttacatt gtgtccagtg aacattctta aaatacatag 56580
aaacagaata gcaaaacacc tttgtaaaag tcttaatgca aattaaacgc tacatattgg 56640
ttagggtaat tgaggatgta aattttatct gtgggctaca tcatcccaat ttgcccgtta 56700
gtgaagttac aataagtata ggtttttagtc tccagaacag aagcaaacag tcttagtatt 56760
cattcttggc atcaccatct tgcaaagttc agattatgag agtcctacaa catctctgtt 56820

cagagcttgt gtgtcccaca gcagttggcg tcgaggaggt gcccctgcac tgcctacaag 56880

tagcttggga gaagcagcca tagtgcacgg ggttccagtg tttacagaca tcgccacaca 56940

aatacactga aaggcaaacg acatttttgt gtggtcagat actataatgc tgccaagtgt 57000

tccagactga aaagtgtaaa cccattgcag cctactctcc ttccccgtca tcacttgggc 57060

tttttttgtt tttttttaag gttttttttt ggggggggtt gggtgaataa ggttttacta 57120

tgtagtctga ggattataga tgtgagccac catgtctggt ttactgttct tttttggaac 57180

agttcittga tgttgtctc ccttagactc cttttgctgc tttgagcatt tgtgcataat 57240

gaagtcactg gagacttggc agcccaacct cacactatct gtcctgtgac tattgaagag 57300

ggttgagtgt gtttgaatgg agcccttttt acatgttata caccatgtcc tcaaggcctt 57360

atgcttttaa gttactttaa gtcttgtttg taaacagaag tcactttgta tttcctgcac 57420

tgggctggcc agttcgttta ggccttttct tcccaacttg ttctgtttgg ctggtactgt 57480

ttggaatgaa tgttcattat tccaaaggaa ctggtgtaag taagtactac cccaagcaat 57540

aatccccgca atagctagca cagtgagctg gaggtggctc agcaggcagg ccatcacggc 57600

gcactgtgtt ctttataggt gcctctctta caatttgact cagatcacta aaaacatcaa 57660

aatttatttg taatagttta aaattaattt tgtgcctgta cacatacacg tgcaagctca 57720
atttcaaggg tgggtttctt gcactcaggt tatcaggctt gctagaccg ttttactttt 57780
tcagctaccc ctgagttttt attaaacaaa aacaatattt ggtaatgtaa taaaaccttt 57840
aaatatattg aaattgagtt atagaatgac ctggtcctgt cctctccata tgctaggaaa 57900
ccctctccta cctcagaaag aggcttgcag acctatgggt taggttggaa gggttccttc 57960
cttctaaaac aatggcttcc aaaccatgct tcaggccaaa taacctgcat atttcacctg 58020
acggccaaaa gctgccttgg ctctttgtcc aaatagctcc ttggacttgg gccatggact 58080
ggccctaaga ctcagcatct cccgtttctc atggcaactc atttgcctcc actatttctt 58140
agtgtcacta aaggctccat gttattagca tctttaaact taagaagatg ttattagcat 58200
cattaagcta ggctggcaat tctcaaggac aaatgggtga aggttgattt aacctgattc 58260
tcagtgattg tttctactaa agttagccat tccagatttc ttaccctgtg cctctcgccc 58320
cccagcaatg tttagctgtc atagaacctg agctcagcca atcccaggag agccctagag 58380
gggacacggg cctgccaaaa tttgttgaga acgccaacaa cagaatatgg taggaaattt 58440
ttggttttcc cctaaaaact cgtgaaattt ctttcttatt gtccatatac agacccttcc 58500
tgtgtccctg gcagagcctg gcccacagga caccccaact agcagaactg cccgaggagc 58560

caaccaaatt aatctggtac aacctgcagt cgtctcctcc tgtgctgacc acatacttgt 58620

catcggaaga gaagcggatg ttcgtcacat gagcagagtg accaaagtaa cgtttgtgct 58680

tggcctgtga ggaaaagcaa acgcagcggc tgagcacatg ttgaccccag taacttgttg 58740

ggttattgat ccaccagctg cccacttcc agaagcccc actgctctgt gtgcagaagg 58800

ccttgatgag aagggtgcct gccgtggcct tgcactttcc cttactctta aggctgtaga 58860

cttctctccc ctgatgcca ggctcaagtc tcaacagtaa gactgcact ttccaggtgc 58920

atcaatcagc cacccttgct gatttccctg cctgatttct tcccactt tgtggccatt 58980

tgtccattca ccaggggcaa gccaaagccc catggggctg gatccatgat aactgaagg 59040

catctatatg actgtatagg agcatggctc ggagacagct caggaggact cacgaatitt 59100

tctgtgcatg gaaaatcaaa gagcttcagc agcccgaagt catcccctgt gacaatgttc 59160

aagccagcat gggtcacaca tgcacagttg acatcagcct tgtctgcgtt tcgtggccag 59220

attccaatga cttcatctcc gagaacactg ttccaagagg aaaaggattt aggaagatgg 59280

gacatagttt cctagggttg ttgtcccctc ctaaggtaaa aagtagatag gaattgtagg 59340

tcatttggtc acgtgggcac accctgctct gcattttcac caccaggcac agcccttccc 59400

caactcccc acattccaga aagaaaactt ttattttatt ttttcttcct tatagttcca 59460
ctgaatatgt atgttgga ggcagaggtt cctgtacctt ttatctttag gttactagaa 59520
gcttcattgt tgctgggctt ggcaaaacat ttgaacttgc tgaatgtggc ttgggggttg 59580
tacgaatgat taaacaaaaa gaaagccctg atgcataaa atcctcccct aagccagtgt 59640
ctagcagctt tgcacccctc cccactgaga aaagacagtt tcctctcagc tcttctatc 59700
ctggccatca caaacccaga ggcagagctg gggcctcttc ctcaaccaga gttctcttca 59760
tttaccttgt ccaggaagcc caggtgatct tctcaacaac catggcttca gttacttgt 59820
tccccagggg aacttcatgt acttggcgct tataggctcc tgttgacacc tgcaagagga 59880
gaggaactga gtccatctgc ttcctcagtt ccacagactc tcttggtgt ctttcccaac 59940
actaactctg cccagttac gcttttcttt aaatccaaac tcagctcctg gctacaaagc 60000
caataaacag tccgttgccc cacagcccat gctaaaattc ataggtaggg tgtgttctac 60060
ctccccaacc cctgtcaaca cacaacagcc tatgttaaaa ttcagagtat cttctatcca 60120
tttctacccc caccacgagg gatggtgaac atgtcaagtg ccctcttgga gtctcctaaa 60180
ggaaactggc cactgttttc acattaaagg acacttgcca gtgtcttaca tcctaggtct 60240
cttctctccc catggggatg gtgtctctac ccatgtcacc agggttttcc ttgagttcat 60300

ggaaagatcc taaatctttc ccacctcagg ttttcaatgc agatggcttg ggacagaaat 60360
cctgccccct ttgttaactc cctcctacag ggcagacatt gctcagccta acgaatgctt 60420
ttttagaagg gaggcaggtc taagttgagt gcctcttcag atgctgcctg acaagctaca 60480
ctttgccttg actgtcagtc cttgccttct ccatggaagt gtgataagct ccagaagaaa 60540
tgaacatact atatctatcc aaaagcctgc ctagctgagg ctttgttgga tacatttgaa 60600
aatgaatat aagtt 60615

<210> 10

<211> 1162

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 10

Met Glu Asp Ile Asp Gln Ser Ser Leu Val Ser Ser Ser Ala Asp Ser
1 5 10 15

Pro Pro Arg Pro Pro Pro Ala Phe Lys Tyr Gln Phe Val Thr Glu Pro
20 25 30

Glu Asp Glu Glu Asp Glu Glu Asp Glu Glu Glu Glu Glu Asp Asp Glu
35 40 45

Asp Leu Glu Glu Leu Glu Val Leu Glu Arg Lys Pro Ala Ala Gly Leu
50 55 60

Ser Ala Ala Pro Val Pro Pro Ala Ala Ala Pro Leu Leu Asp Phe Ser
65 70 75 80

Ser Asp Ser Val Pro Pro Ala Pro Arg Gly Pro Leu Pro Ala Ala Pro
85 90 95

Pro Thr Ala Pro Glu Arg Gln Pro Ser Trp Glu Arg Ser Pro Ala Ala
100 105 110

Ser Ala Pro Ser Leu Pro Pro Ala Ala Ala Val Leu Pro Ser Lys Leu
115 120 125

Pro Glu Asp Asp Glu Pro Pro Ala Arg Pro Pro Ala Pro Ala Gly Ala
130 135 140

Ser Pro Leu Ala Glu Pro Ala Ala Pro Pro Ser Thr Pro Ala Ala Pro

145 150 155 160

Lys Arg Arg Gly Ser Gly Ser Val Asp Glu Thr Leu Phe Ala Leu Pro
165 170 175

Ala Ala Ser Glu Pro Val Ile Pro Ser Ser Ala Glu Lys Ile Met Asp
180 185 190

Leu Lys Glu Gln Pro Gly Asn Thr Val Ser Ser Gly Gln Glu Asp Phe
195 200 205

Pro Ser Val Leu Phe Glu Thr Ala Ala Ser Leu Pro Ser Leu Ser Pro
210 215 220

Leu Ser Thr Val Ser Phe Lys Glu His Gly Tyr Leu Gly Asn Leu Ser
225 230 235 240

Ala Val Ala Ser Thr Glu Gly Thr Ile Glu Glu Thr Leu Asn Glu Ala
245 250 255

Ser Arg Glu Leu Pro Glu Arg Ala Thr Asn Pro Phe Val Asn Arg Glu
260 265 270

Ser Ala Glu Phe Ser Val Leu Glu Tyr Ser Glu Met Gly Ser Ser Phe
275 280 285

Asn Gly Ser Pro Lys Gly Glu Ser Ala Met Leu Val Glu Asn Thr Lys
290 295 300

Glu Glu Val Ile Val Arg Ser Lys Asp Lys Glu Asp Leu Val Cys Ser
305 310 315 320

Ala Ala Leu His Asn Pro Gln Glu Ser Pro Ala Thr Leu Thr Lys Val
325 330 335

Val Lys Glu Asp Gly Val Met Ser Pro Glu Lys Thr Met Asp Ile Phe
340 345 350

Asn Glu Met Lys Met Ser Val Val Ala Pro Val Arg Glu Glu Tyr Ala
355 360 365

Asp Phe Lys Pro Phe Glu Gln Ala Trp Glu Val Lys Asp Thr Tyr Glu
370 375 380

Gly Ser Arg Asp Val Leu Ala Ala Arg Ala Asn Met Glu Ser Lys Val
385 390 395 400

Asp Lys Lys Cys Phe Glu Asp Ser Leu Glu Gln Lys Gly His Gly Lys
405 410 415

Asp Ser Glu Ser Arg Asn Glu Asn Ala Ser Phe Pro Arg Thr Pro Glu
420 425 430

Leu Val Lys Asp Gly Ser Arg Ala Tyr Ile Thr Cys Asp Ser Phe Ser
435 440 445

Ser Ala Thr Glu Ser Thr Ala Ala Asn Ile Phe Pro Val Leu Glu Asp
450 455 460

His Thr Ser Glu Asn Lys Thr Asp Glu Lys Lys Ile Glu Glu Arg Lys
465 470 475 480

Ala Gln Ile Ile Thr Glu Lys Thr Ser Pro Lys Thr Ser Asn Pro Phe
485 490 495

Leu Val Ala Ile His Asp Ser Glu Ala Asp Tyr Val Thr Thr Asp Asn
500 505 510

Leu Ser Lys Val Thr Glu Ala Val Val Ala Thr Met Pro Glu Gly Leu
515 520 525

Thr Pro Asp Leu Val Gln Glu Ala Cys Glu Ser Glu Leu Asn Glu Ala
530 535 540

Thr Gly Thr Lys Ile Ala Tyr Glu Thr Lys Val Asp Leu Val Gln Thr
545 550 555 560

Ser Glu Ala Ile Gln Glu Ser Ile Tyr Pro Thr Ala Gln Leu Cys Pro
565 570 575

Ser Phe Glu Glu Ala Glu Ala Thr Pro Ser Pro Val Leu Pro Asp Ile
580 585 590

Val Met Glu Ala Pro Leu Asn Ser Leu Leu Pro Ser Thr Gly Ala Ser
595 600 605

Val Ala Gln Pro Ser Ala Ser Pro Leu Glu Val Pro Ser Pro Val Ser

610

615

620

Tyr Asp Gly Ile Lys Leu Glu Pro Glu Asn Pro Pro Pro Tyr Glu Glu

625

630

635

640

Ala Met Ser Val Ala Leu Lys Thr Ser Asp Ser Lys Glu Glu Ile Lys

645

650

655

Glu Pro Glu Ser Phe Asn Ala Ala Ala Gln Glu Ala Glu Ala Pro Tyr

660

665

670

Ile Ser Ile Ala Cys Asp Leu Ile Lys Glu Thr Lys Leu Ser Thr Glu

675

680

685

Pro Ser Pro Glu Phe Ser Asn Tyr Ser Glu Ile Ala Lys Phe Glu Lys

690

695

700

Ser Val Pro Asp His Cys Glu Leu Val Asp Asp Ser Ser Pro Glu Ser

705

710

715

720

Glu Pro Val Asp Leu Phe Ser Asp Asp Ser Ile Pro Glu Val Pro Gln

725

730

735

Thr Gln Glu Glu Ala Val Met Leu Met Lys Glu Ser Leu Thr Glu Val
740 745 750

Ser Glu Thr Val Thr Gln His Lys His Lys Glu Arg Leu Ser Ala Ser
755 760 765

Pro Gln Glu Val Gly Lys Pro Tyr Leu Glu Ser Phe Gln Pro Asn Leu
770 775 780

His Ile Thr Lys Asp Ala Ala Ser Asn Glu Ile Pro Thr Leu Thr Lys
785 790 795 800

Lys Glu Thr Ile Ser Leu Gln Met Glu Glu Phe Asn Thr Ala Ile Tyr
805 810 815

Ser Asn Asp Asp Leu Leu Ser Ser Lys Glu Asp Lys Met Lys Glu Ser
820 825 830

Glu Thr Phe Ser Asp Ser Ser Pro Ile Glu Ile Ile Asp Glu Phe Pro
835 840 845

Thr Phe Val Ser Ala Lys Asp Asp Ser Pro Lys Glu Tyr Thr Asp Leu
850 855 860

Glu Val Ser Asn Lys Ser Glu Ile Ala Asn Val Gln Ser Gly Ala Asn
865 870 875 880

Ser Leu Pro Cys Ser Glu Leu Pro Cys Asp Leu Ser Phe Lys Asn Thr
885 890 895

Tyr Pro Lys Asp Glu Ala His Val Ser Asp Glu Phe Ser Lys Ser Arg
900 905 910

Ser Ser Val Ser Lys Val Pro Leu Leu Leu Pro Asn Val Ser Ala Leu
915 920 925

Glu Ser Gln Ile Glu Met Gly Asn Ile Val Lys Pro Lys Val Leu Thr
930 935 940

Lys Glu Ala Glu Glu Lys Leu Pro Ser Asp Thr Glu Lys Glu Asp Arg
945 950 955 960

Ser Leu Thr Ala Val Leu Ser Ala Glu Leu Asn Lys Thr Ser Val Val
965 970 975

Asp Leu Leu Tyr Trp Arg Asp Ile Lys Lys Thr Gly Val Val Phe Gly
980 985 990

Ala Ser Leu Phe Leu Leu Leu Ser Leu Thr Val Phe Ser Ile Val Ser
995 1000 1005

Val Thr Ala Tyr Ile Ala Leu Ala Leu Leu Ser Val Thr Ile Ser
1010 1015 1020

Phe Arg Ile Tyr Lys Gly Val Ile Gln Ala Ile Gln Lys Ser Asp
1025 1030 1035

Glu Gly His Pro Phe Arg Ala Tyr Leu Glu Ser Glu Val Ala Ile
1040 1045 1050

Ser Glu Glu Leu Val Gln Lys Tyr Ser Asn Ser Ala Leu Gly His
1055 1060 1065

Val Asn Ser Thr Ile Lys Glu Leu Arg Arg Leu Phe Leu Val Asp

1070

1075

1080

Asp Leu Val Asp Ser Leu Lys Phe Ala Val Leu Met Trp Val Phe

1085

1090

1095

Thr Tyr Val Gly Ala Leu Phe Asn Gly Leu Thr Leu Leu Ile Leu

1100

1105

1110

Ala Leu Ile Ser Leu Phe Ser Ile Pro Val Ile Tyr Glu Arg His

1115

1120

1125

Gln Ala Gln Ile Asp His Tyr Leu Gly Leu Ala Asn Lys Ser Val

1130

1135

1140

Lys Asp Ala Met Ala Lys Ile Gln Ala Lys Ile Pro Gly Leu Lys

1145

1150

1155

Arg Lys Ala Glu

1160

<210> 11

<211> 582

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 11

atggctgccca tccggaagaa actggtgatt gttggtgatg gagcctgtgg aaagacatgc 60

ttgctcatag tcttcagcaa ggaccagtgc ccagagggtg atgtgccac agtgtttgag 120

aactatgtgg cagatatcga ggtggatgga aagcaggtag agttggcttt gtgggacaca 180

gctgggcagg aagattatga tcgcctgagg cccctctcct acccagatac cgatgttata 240

ctgatgtgtt tttccatcga cagccctgat agtttagaaa acatcccaga aaagtggacc 300

ccagaagtca agcatttctg tcccaacgtg cccatcatcc tggttgggaa taagaaggat 360

cttcggaatg atgagcacac aaggcgggag ctagccaaga tgaagcagga gccggtgaaa 420

cctgaagaag gcagagatat ggcaaacagg attggcgctt ttgggtacat ggagtgttca 480

gcaaagacca aagatggagt gagagaggtt tttgaaatgg ctacgagagc tgctctgcaa 540

gctagacgtg ggaagaaaaa atctggttgc cttgtcttgt ga 582

<210> 12

<211> 193

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 12

Met Ala Ala Ile Arg Lys Lys Leu Val Ile Val Gly Asp Gly Ala Cys
1 5 10 15

Gly Lys Thr Cys Leu Leu Ile Val Phe Ser Lys Asp Gln Phe Pro Glu
 20 25 30

Val Tyr Val Pro Thr Val Phe Glu Asn Tyr Val Ala Asp Ile Glu Val
 35 40 45

Asp Gly Lys Gln Val Glu Leu Ala Leu Trp Asp Thr Ala Gly Gln Glu
 50 55 60

Asp Tyr Asp Arg Leu Arg Pro Leu Ser Tyr Pro Asp Thr Asp Val Ile
65 70 75 80

Leu Met Cys Phe Ser Ile Asp Ser Pro Asp Ser Leu Glu Asn Ile Pro
 85 90 95

Glu Lys Trp Thr Pro Glu Val Lys His Phe Cys Pro Asn Val Pro Ile
 100 105 110

Ile Leu Val Gly Asn Lys Lys Asp Leu Arg Asn Asp Glu His Thr Arg
 115 120 125

Arg Glu Leu Ala Lys Met Lys Gln Glu Pro Val Lys Pro Glu Glu Gly
 130 135 140

Arg Asp Met Ala Asn Arg Ile Gly Ala Phe Gly Tyr Met Glu Cys Ser
 145 150 155 160

Ala Lys Thr Lys Asp Gly Val Arg Glu Val Phe Glu Met Ala Thr Arg
 165 170 175

Ala Ala Leu Gln Ala Arg Arg Gly Lys Lys Lys Ser Gly Cys Leu Val
 180 185 190

Leu

<210> 13

<211> 1145

<212> DNA

<213> Mus musculus

<400> 13

atgtccaatc ctggtgatgt ccgacctgtt ccgcacagga gcaaagtgtg ccgttgtctc 60

ttcgggtccc tggacagtga gcagttgcgc cgtgattgcg atgcgctcat ggcgggctgt 120

ctccaggagg cccgagaacg gtggaacttt gacttcgtca cggagacgcc gctggagggc 180

aactttgtct gggagcgcgt tcggagccta gggctgccca aggtctacct gagccctggg 240

tcccgcagcc gtgacgacct gggagggggac aagaggccca gtacttcctc tgccctgtgt 300

caggggccag ctccagagga ccacgtggcc ttgtcgctgt cttgcactct ggtgtctgag 360

cggcctgaag attccccggg tgggcccgga acatctcagg gccgaaaacg gaggcagacc 420

agcctgacag gtaaggacag agaagagaag gagaaagatc ctgcaagagg cctggagagg 480

agaggccacc atttgaggat ggcctttaca gagaacattc cagcccttcc ccaccaccaa 540

gccattccat aggcgtggga cctcgtgggg ctgagaggaa cagttgatcc aggcattttt 600

ctctgcagtg accgaaatgc ccaggatagt gtggtgattg gcagtagagc tctaagaagg 660

gagccgggct gaagagatgg ctgagcactt actcttgctg agggcctgag ttcgattccc 720

agcaccggaa atgacaactt cctataacta actctgggcg ttgggggatc taccctctct 780

agagccctgt ccctctgacc aggaggtgtt gtgccctgtg gctgtggctt ttccccacga 840
 tgagccacat gtcccttaga ctctggggaa tgatgtcctt ccccttggca tctggcctga 900
 catctgttct ctctccacag atttctatca ctccaagcgc agattgggtct tctgcaagag 960
 aaaaccctga agtgcccacg ggagccccgc cctcttctgc tgtgggtcag gaggcctctt 1020
 ccccatcttc ggccttagcc ctcaactctgt gtgtcttaat tattatttgt gttttaattt 1080
 aaacgtctcc tgatatacgc tgcctgccct ctcccagtct ccaaacttaa agttatttaa 1140
 aaaaaa 1145

<210> 14

<211> 159

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 14

Met Ser Asn Pro Gly Asp Val Arg Pro Val Pro His Arg Ser Lys Val
 1 5 10 15

Cys Arg Cys Leu Phe Gly Pro Val Asp Ser Glu Gln Leu Arg Arg Asp
 20 25 30

Cys Asp Ala Leu Met Ala Gly Cys Leu Gln Glu Ala Arg Glu Arg Trp
35 40 45

Asn Phe Asp Phe Val Thr Glu Thr Pro Leu Glu Gly Asn Phe Val Trp
50 55 60

Glu Arg Val Arg Ser Leu Gly Leu Pro Lys Val Tyr Leu Ser Pro Gly
65 70 75 80

Ser Arg Ser Arg Asp Asp Leu Gly Gly Asp Lys Arg Pro Ser Thr Ser
85 90 95

Ser Ala Leu Leu Gln Gly Pro Ala Pro Glu Asp His Val Ala Leu Ser
100 105 110

Leu Ser Cys Thr Leu Val Ser Glu Arg Pro Glu Asp Ser Pro Gly Gly
115 120 125

Pro Gly Thr Ser Gln Gly Arg Lys Arg Arg Gln Thr Ser Leu Thr Asp
130 135 140

Phe Tyr His Ser Lys Arg Arg Leu Val Phe Cys Lys Arg Lys Pro
 145 150 155

<210> 15

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> Artificial Sequence

<400> 15

Gly Gly Trp Lys Trp Trp Pro Gly Ile Phe
 1 5 10

<210> 16

<211> 3259

<212> DNA

<213> Rattus norvegicus

<400> 16

cagctccggc gggcagcagg cgctggagcg catcgcagtt cagctcagcg cagcaccatc 60

ggtctgcgga gcggactgag ctagaagcgg agcgctgacg ccggaggcgt gcaatgagga 120

gggcaggtgc tgcctgcagc gccatggacc ggctgcgcct gctgctgctg ctgattctag 180

gggtgtcctc tggaggtgcc aaggagacat gttccacagg cctgtacacc cacagcggag 240
agtgtctcaa agcctgcaac ttgggcgaag gcgtggccca gccctgcgga gccaaccaga 300
ccgtgtgtga accctgcctg gacaatgtta cattctccga tgtggtgagc gccactgagc 360
cgtgcaagcc gtgcaccgag tgccctgggcc tgcagagcat gtccgctccc tgtgtggagg 420
cagacgatgc agtgtgcaga tgtgcctatg gctactacca ggacgaggag actggccact 480
gtgaggcttg cagcgtgtgc gaggtgggct cgggactcgt gttctcctgc caggacaaac 540
agaacacagt gtgtgaagag tgcccagagg gcacatactc agacgaagcc aaccacgtgg 600
accctgcct accctgcacg gtgtgcgagg aactgagcg ccagttacgc gagtgcacgc 660
cctgggctga tgctgaatgc gaagagatcc ctggtcgatg gatcccaagg tctacgcccc 720
cggagggctc cgacagcaca gcgcccagca cccaggagcc tgaggttcct ccagagcaag 780
accttgtacc cagtacagtg gcggatatgg tgaccactgt gatgggcagc tcccagcctg 840
tagtgacccg cggcaccacc gacaacctca ttctgtcta ttgtccatc ttggctgctg 900
tggtcgtggg ccttgtggcc tatattgctt tcaagagggtg gaacagctgc aaacaaaata 960
aacaaggcgc caacagccgc cccgtgaacc agacgcccc accggaggga gagaaactgc 1020

acagcgacag tggcatctct gtggacagcc agagcctgca cgaccagcag acccatacgc 1080

agactgcctc aggccaggcc ctcaagggtg atggcaacct ctacagtagc ctgcccctga 1140

ccaagcgtga ggaggtagag aaactgctca acggggatac ctggcgacat ctggcaggcg 1200

agctgggtta ccagcctgaa catatagact cctttacca cgaggcctgc ccagtgcgag 1260

ccctgctggc cagctgggggt gcccaggaca gtgcaacgct tgatgccctt ttagccgccc 1320

tgcgacgcat ccagagagct gacattgtgg agagtctatg cagcgagtcc actgccacat 1380

ccccagtgtg aactcacaga ctgggagccc ctgtcctgtc ccacattccg acgactgatg 1440

ttctagccag cccccacaga gctgccccct ctccctcggg gatggcccaa cggtcagaac 1500

ggagcatctc tgtgcagggc ctctgtgttc ccactcctga ctccgttgct gctcccagg 1560

gggcccttgc ttctgaccac cctctcctca gcaagagaga gagagaggac caccgagcc 1620

tgacttgctc catttccatc tcaggccttt ccttcctttc tacacattag ctgtgtcaga 1680

tctgggggtt tgacactagg agaaggagc gggggcaccc ctaagactca ggaggtactg 1740

aagaaccaga gccatggact ccactgtg aaccggagaa caaggggcgg ggcattgtgg 1800

taggctagac cttccttagc ccttccttc tcccctctgg ccaaagaaga ggattacgga 1860

cctatctgag ctgaaagcag gtttggaacc cagcccacac ttctctctca cacacaggat 1920

ggtaaaaccc agagaaaggc agggactgac ctaggccacc caaccacagg aagaacaaat 1980

gaaggctgat acactccgtt tctgaatgag ggcgtcaagt gtgcttggtg acagggatgg 2040

cgtgactttc agggaaatat ctggaagcca tgtctgcccc gccctcaacc acttccaggc 2100

ccctacccaa cccttggtgca gatgaactgt ttgttcaagg gctgggtccat tgggtctattc 2160

tgatggagtc aagctaaggc ctcaggctta tccataaggc atttgtggag agatgaatct 2220

gttagtgcg tcattcttgg cataagcctg aagccaacac ggcccttaat gtcagccctc 2280

ggggtcagga accaaggact cccacccccac aatccaacac tatactacat tacacacaca 2340

cacacacaca cacacacaca cacacacaca cacacacaga tatcttgctt ttctccccat 2400

ggctcttttg gggctgagac tagatcctgc tgggagtcac tgccagtgag agatccggag 2460

gggacagagc tgagcttcat ggggctgtct tcctcgcccc cgggtctggc aggccaagaa 2520

tgactgcac tgagctgggtg tctgtcttcc aatggcctgt gcgtggagga aatgctccca 2580

ctctccccct tcttgaagct gccccagaa gactacagtg caaaagagca gactgggtgtg 2640

agaacacaag aaaaagcaga tgctggccct gcagtctgtg gcagctttct cctcagcttc 2700

aaggcccctg caaaggacgg atttcctgag cacggccagg aaggggcaag agggttcgg 2760

tcagtggcgc tttctcccgg ctccttggcc tgttctgttt tgcttgctgt tggaatgagt 2820
gggcaccccc tctatttagc atgaaggagc cccaggcagg gtatgcacag actgaccacc 2880
atccctcccc acccagggtc cacccaaccc ggtgaagaga ccaggagcat tgtacgcata 2940
cgcggttggt atttttatgg accccaatct gcaattccca gacacctggg aagtgggaca 3000
ttctttgtgt atttatttc ctccccagga gctggggagt ggtggggggc tgcaggtacg 3060
gtttagcatg tgtttggttc tgggggtctc tccagccttg ttttgggcca agttggaacc 3120
tctggccctc cagctggtga ctatgaactc cagaccctt cgtgctcccc gacgccttcc 3180
ccttgcaccc tgtgtaacca tttcggttggg ccttcccaaa acctacacat aaaacataca 3240
ggaggaccat taaattggc 3259

<210> 17

<211> 425

<212> PRT

<213> Rattus norvegicus

<400> 17

Met Arg Arg Ala Gly Ala Ala Cys Ser Ala Met Asp Arg Leu Arg Leu

1

5

10

15

Leu Leu Leu Leu Ile Leu Gly Val Ser Ser Gly Gly Ala Lys Glu Thr
20 25 30

Cys Ser Thr Gly Leu Tyr Thr His Ser Gly Glu Cys Cys Lys Ala Cys
35 40 45

Asn Leu Gly Glu Gly Val Ala Gln Pro Cys Gly Ala Asn Gln Thr Val
50 55 60

Cys Glu Pro Cys Leu Asp Asn Val Thr Phe Ser Asp Val Val Ser Ala
65 70 75 80

Thr Glu Pro Cys Lys Pro Cys Thr Glu Cys Leu Gly Leu Gln Ser Met
85 90 95

Ser Ala Pro Cys Val Glu Ala Asp Asp Ala Val Cys Arg Cys Ala Tyr
100 105 110

Gly Tyr Tyr Gln Asp Glu Glu Thr Gly His Cys Glu Ala Cys Ser Val
115 120 125

Cys Glu Val Gly Ser Gly Leu Val Phe Ser Cys Gln Asp Lys Gln Asn
130 135 140

Thr Val Cys Glu Glu Cys Pro Glu Gly Thr Tyr Ser Asp Glu Ala Asn
145 150 155 160

His Val Asp Pro Cys Leu Pro Cys Thr Val Cys Glu Asp Thr Glu Arg
165 170 175

Gln Leu Arg Glu Cys Thr Pro Trp Ala Asp Ala Glu Cys Glu Glu Ile
180 185 190

Pro Gly Arg Trp Ile Pro Arg Ser Thr Pro Pro Glu Gly Ser Asp Ser
195 200 205

..... Thr Ala Pro Ser Thr Gln Glu Pro Glu Val Pro Pro Glu Gln Asp Leu
210 215 220

Val Pro Ser Thr Val Ala Asp Met Val Thr Thr Val Met Gly Ser Ser
225 230 235 240

Gln Pro Val Val Thr Arg Gly Thr Thr Asp Asn Leu Ile Pro Val Tyr

245

250

255

Cys Ser Ile Leu Ala Ala Val Val Val Gly Leu Val Ala Tyr Ile Ala

260

265

270

Phe Lys Arg Trp Asn Ser Cys Lys Gln Asn Lys Gln Gly Ala Asn Ser

275

280

285

Arg Pro Val Asn Gln Thr Pro Pro Pro Glu Gly Glu Lys Leu His Ser

290

295

300

Asp Ser Gly Ile Ser Val Asp Ser Gln Ser Leu His Asp Gln Gln Thr

305

310

315

320

His Thr Gln Thr Ala Ser Gly Gln Ala Leu Lys Gly Asp Gly Asn Leu

325

330

335

Tyr Ser Ser Leu Pro Leu Thr Lys Arg Glu Glu Val Glu Lys Leu Leu

340

345

350

Asn Gly Asp Thr Trp Arg His Leu Ala Gly Glu Leu Gly Tyr Gln Pro

355

360

365

Glu His Ile Asp Ser Phe Thr His Glu Ala Cys Pro Val Arg Ala Leu
 370 375 380

Leu Ala Ser Trp Gly Ala Gln Asp Ser Ala Thr Leu Asp Ala Leu Leu
 385 390 395 400

Ala Ala Leu Arg Arg Ile Gln Arg Ala Asp Ile Val Glu Ser Leu Cys
 405 410 415

Ser Glu Ser Thr Ala Thr Ser Pro Val
 420 425

<210> 18

<211> 4167

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 18

atgagccggc ccccgccgac ggggaaaatg cccggcgccc ccgagaccgc gccgggggac 60

ggggcaggcg cgagccgcca gaggaagctg gaggcgctga tccgagaccc tcgctccccc 120

atcaacgtgg agagcttgct ggatggctta aattccttgg tccttgattt agatttticct 180

gctttgagga aaaacaagaa catagataat ttcttaaata gatatgagaa aattgtgaaa 240

aaaatcaaag gtctacagat gaaggcagaa gactatgatg ttgtaaaagt tattggaaga 300

ggtgcttttg gtgaagtgca gttggttcgt cacaaggcat cgcagaaggt ttatgctatg 360

aagcttctta gtaagtttga aatgataaaa agatcagatt ctgccttttt ttgggaagaa 420

agagatatta tggcctttgc caatagcccc tgggtgggtc agctttttta tgcctttcaa 480

gatgataggt atctgtacat ggtaatggag tacatgcctg gtggagacct tgtaaacctt 540

atgagtaatt atgatgtgcc tgaaaaatgg gccaaatfff aactgctga agttgttctt 600

gctctggatg caatacactc catgggttta atacacagag atgtgaagcc tgacaacatg 660

ctcttggata aacatggaca tctaaaatta gcagattttg gcacgtgtat gaagatggat 720

gaaacaggca tggtacattg tgatacagca gttggaacac cggattatat atcacctgag 780

gttctgaaat cacaaggggg tgatggtttc tatgggcgag aatgtgattg gtggtctgta 840

ggtgttttcc tttatgagat gctagtgggg gatactccat tttatgcgga ttcacttgta 900

ggaacatata gcaaaattat ggatcataag aattcactgt gtttccctga agatgcagaa 960

atttccaaac atgcaaagaa tctcatctgt gctttcttaa cagataggga ggtacgactt 1020

gggagaaatg gggtggaaga aatcagacag catcctttct ttaagaatga tcagtggcat 1080
tgggataaca taagagaaac ggcagctcct gtagtacctg aactcagcag tgacatagac 1140
agcagcaatt tcgatgacat tgaagatgac aaaggagatg tagaaacctt cccaattcct 1200
aaagcttttg ttggaaatca gctgcctttc atcggattta cctactatag agaaaattta 1260
ttattaagtg actctccatc ttgtagagaa aatgattcca tacaatcaag gaaaaatgaa 1320
gaaagtcaag agattcagaa aaaactgtat acattagaag aacatcttag caatgagatg 1380
caagccaaag aggaactgga acagaagtgc aaatctgtta atactcgcct agaaaaaaca 1440
gcaaaggagc tagaagagga gattacctta cggaaaagtg tggaatcagc attaagacag 1500
ttagaaagag aaaaggcgct tcttcagcac aaaaatgcag aatatcagag gaaagctgat 1560
catgaagcag acaaaaaacg aaatttggaa aatgatgtta acagcttaaa agatcaactt 1620
gaagatttga aaaaaagaaa tcaaaactct caaatatcca ctgagaaagt gaatcaactc 1680
cagagacaac tggatgaaac caatgcttta ctgcgaacag agtctgatac tgcagcccgg 1740
ttaaggaaaa ccaggcaga aagttcaaaa cagattcagc agctggaatc taacaataga 1800
gatctacaag ataaaaactg cctgctggag actgccaagt taaaacttga aaaggaattt 1860
atcaatcttc agtcagctct agaatctgaa aggagggatc gaacccatgg atcagagata 1920

attaatgatt tacaaggtag aatatgtggc ctagaagaag atttaaagaa cggcaaaatc 1980

ttactagcga aagtagaact ggagaagaga caacttcagg agagatttac tgatttggaa 2040

aaggaaaaaa gcaacatgga aatagatatg acataccaac taaaagttat acagcagagc 2100

ctagaacaag aagaagctga acataaggcc acaaaggcac gactagcaga taaaaataag 2160

atctatgagt ccatcgaaga agccaaatca gaagccatga aagaaatgga gaagaagctc 2220

ttggaggaaa gaacttttaa acagaaagtg gagaacctat tgctagaagc tgagaaaaga 2280

tgttctctat tagactgtga cctcaaacag tcacagcaga aaataaatga gctccttaaa 2340

cagaaagatg tgctaaatga ggatgttaga aacctgacat taaaaataga gcaagaaact 2400

cagaagcgct gccttacaca aaatgacctg aagatgcaaa cacaacaggt taacacacta 2460

aaaatgtcag aaaagcagtt aaagcaagaa aataaccatc tcatggaaat gaaaatgaac 2520

ttggaaaaac aaaatgctga acttcgaaaa gaacgtcagg atgcagatgg gcaaatgaaa 2580

gagctccagg atcagctcga agcagaacag tattttctcaa ccctttataa aacacaagtt 2640

agggagctta aagaagaatg tgaagaaaag accaaacttg gtaaagaatt gcagcagaag 2700

aaacaggaat tacaggatga acgggactct ttggctgccc aactggagat caccttgacc 2760

aaagcagatt ctgagcaact ggctcgttca attgctgaag aacaatattc tgatttgga 2820

aaagagaaga tcatgaaaga gctggagatc aaagagatga tggctagaca caaacaggaa 2880

cttacggaaa aagatgctac aattgcttct cttgaggaaa ctaataggac actaactagt 2940

gatgttgcca atcttgcaaa tgagaaagaa gaattaaata acaaattgaa agatgttcaa 3000

gagcaactgt caagattgaa agatgaagaa ataagcgcag cagctattaa agcacagttt 3060

gagaagcagc tattaacaga aagaacactc aaaactcaag ctgtgaataa gttggctgag 3120

atcatgaatc gaaaagaacc tgtcaagcgt ggtaatgaca cagatgtgcg gagaaaagag 3180

aaggagaata gaaagctaca tatggagctt aaatctgaac gtgagaaatt gacccagcag 3240

atgatcaagt atcagaaaga actgaatgaa atgcaggcac aaatagctga agagagccag 3300

attcgaattg aactgcagat gacattggac agtaaagaca gtgacattga gcagctgcgg 3360

tcacaactcc aagccttgca tattgggtctg gatagttcca gtataggcag tggaccaggg 3420

gatgctgagg cagatgatgg gtttccagaa tcaagattag aaggatggct ttcatgacct 3480

gtacgaaaca acactaagaa atttggatgg gttaaaaagt atgtgattgt aagcagtaag 3540

aagattcttt tctatgacag tgaacaagat aaagaacaat ccaatcctta catggtttta 3600

gatatagaca agttatttca tgtccgacca gttacacaga cagatgtgta tagagcagat 3660

gctaaagaaa ttccaaggat attccagatt ctgtatgcc aatgaaggaga aagtaagaag 3720
gaacaagaat ttccagtgga gccagttgga gaaaaatcta attatatattg ccacaaggga 3780
catgagttta ttcctactct ttatcatttc ccaaccaact gtgaggcttg tatgaagccc 3840
ctgtggcaca tgtttaagcc tcctcctgct ttggagtgcc gccgttgcca tattaagtgt 3900
cataaagatc atatggacaa aaaggaggag attatagcac cttgcaaagt atattatgat 3960
atttcaacgg caaagaatct gttattacta gcaaattcta cagaagagca gcagaagtgg 4020
gttagtcggt tggtgaaaaa gatacctaaa aagccccag ctccagaccc ttttgcccga 4080
tcatctccta gaacttcaat gaagatacag caaaccagt ctattagacg gccaaagtcga 4140
cagcttgccc caaacaacc tagctaa 4167

<210> 19

<211> 1388

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 19

Met Ser Arg Pro Pro Pro Thr Gly Lys Met Pro Gly Ala Pro Glu Thr

1

5

10

15

Ala Pro Gly Asp Gly Ala Gly Ala Ser Arg Gln Arg Lys Leu Glu Ala
20 25 30

Leu Ile Arg Asp Pro Arg Ser Pro Ile Asn Val Glu Ser Leu Leu Asp
35 40 45

Gly Leu Asn Ser Leu Val Leu Asp Leu Asp Phe Pro Ala Leu Arg Lys
50 55 60

Asn Lys Asn Ile Asp Asn Phe Leu Asn Arg Tyr Glu Lys Ile Val Lys
65 70 75 80

Lys Ile Lys Gly Leu Gln Met Lys Ala Glu Asp Tyr Asp Val Val Lys
85 90 95

Val Ile Gly Arg Gly Ala Phe Gly Glu Val Gln Leu Val Arg His Lys
100 105 110

Ala Ser Gln Lys Val Tyr Ala Met Lys Leu Leu Ser Lys Phe Glu Met
115 120 125

Ile Lys Arg Ser Asp Ser Ala Phe Phe Trp Glu Glu Arg Asp Ile Met
130 135 140

Ala Phe Ala Asn Ser Pro Trp Val Val Gln Leu Phe Tyr Ala Phe Gln
145 150 155 160

Asp Asp Arg Tyr Leu Tyr Met Val Met Glu Tyr Met Pro Gly Gly Asp
165 170 175

Leu Val Asn Leu Met Ser Asn Tyr Asp Val Pro Glu Lys Trp Ala Lys
180 185 190

Phe Tyr Thr Ala Glu Val Val Leu Ala Leu Asp Ala Ile His Ser Met
195 200 205

Gly Leu Ile His Arg Asp Val Lys Pro Asp Asn Met Leu Leu Asp Lys
210 215 220

His Gly His Leu Lys Leu Ala Asp Phe Gly Thr Cys Met Lys Met Asp
225 230 235 240

Glu Thr Gly Met Val His Cys Asp Thr Ala Val Gly Thr Pro Asp Tyr
245 250 255

Ile Ser Pro Glu Val Leu Lys Ser Gln Gly Gly Asp Gly Phe Tyr Gly
260 265 270

Arg Glu Cys Asp Trp Trp Ser Val Gly Val Phe Leu Tyr Glu Met Leu
275 280 285

Val Gly Asp Thr Pro Phe Tyr Ala Asp Ser Leu Val Gly Thr Tyr Ser
290 295 300

Lys Ile Met Asp His Lys Asn Ser Leu Cys Phe Pro Glu Asp Ala Glu
305 310 315 320

Ile Ser Lys His Ala Lys Asn Leu Ile Cys Ala Phe Leu Thr Asp Arg
325 330 335

Glu Val Arg Leu Gly Arg Asn Gly Val Glu Glu Ile Arg Gln His Pro
340 345 350

Phe Phe Lys Asn Asp Gln Trp His Trp Asp Asn Ile Arg Glu Thr Ala

355

360

365

Ala Pro Val Val Pro Glu Leu Ser Ser Asp Ile Asp Ser Ser Asn Phe

370

375

380

Asp Asp Ile Glu Asp Asp Lys Gly Asp Val Glu Thr Phe Pro Ile Pro

385

390

395

400

Lys Ala Phe Val Gly Asn Gln Leu Pro Phe Ile Gly Phe Thr Tyr Tyr

405

410

415

Arg Glu Asn Leu Leu Leu Ser Asp Ser Pro Ser Cys Arg Glu Asn Asp

420

425

430

Ser Ile Gln Ser Arg Lys Asn Glu Glu Ser Gln Glu Ile Gln Lys Lys

435

440

445

Leu Tyr Thr Leu Glu Glu His Leu Ser Asn Glu Met Gln Ala Lys Glu

450

455

460

Glu Leu Glu Gln Lys Cys Lys Ser Val Asn Thr Arg Leu Glu Lys Thr

465

470

475

480

Ala Lys Glu Leu Glu Glu Glu Ile Thr Leu Arg Lys Ser Val Glu Ser
485 490 495

Ala Leu Arg Gln Leu Glu Arg Glu Lys Ala Leu Leu Gln His Lys Asn
500 505 510

Ala Glu Tyr Gln Arg Lys Ala Asp His Glu Ala Asp Lys Lys Arg Asn
515 520 525

Leu Glu Asn Asp Val Asn Ser Leu Lys Asp Gln Leu Glu Asp Leu Lys
530 535 540

Lys Arg Asn Gln Asn Ser Gln Ile Ser Thr Glu Lys Val Asn Gln Leu
545 550 555 560

Gln Arg Gln Leu Asp Glu Thr Asn Ala Leu Leu Arg Thr Glu Ser Asp
565 570 575

Thr Ala Ala Arg Leu Arg Lys Thr Gln Ala Glu Ser Ser Lys Gln Ile
580 585 590

Gln Gln Leu Glu Ser Asn Asn Arg Asp Leu Gln Asp Lys Asn Cys Leu
595 600 605

Leu Glu Thr Ala Lys Leu Lys Leu Glu Lys Glu Phe Ile Asn Leu Gln
610 615 620

Ser Ala Leu Glu Ser Glu Arg Arg Asp Arg Thr His Gly Ser Glu Ile
625 630 635 640

Ile Asn Asp Leu Gln Gly Arg Ile Cys Gly Leu Glu Glu Asp Leu Lys
645 650 655

Asn Gly Lys Ile Leu Leu Ala Lys Val Glu Leu Glu Lys Arg Gln Leu
660 665 670

Gln Glu Arg Phe Thr Asp Leu Glu Lys Glu Lys Ser Asn Met Glu Ile
675 680 685

Asp Met Thr Tyr Gln Leu Lys Val Ile Gln Gln Ser Leu Glu Gln Glu
690 695 700

Glu Ala Glu His Lys Ala Thr Lys Ala Arg Leu Ala Asp Lys Asn Lys
705 710 715 720

Ile Tyr Glu Ser Ile Glu Glu Ala Lys Ser Glu Ala Met Lys Glu Met
725 730 735

Glu Lys Lys Leu Leu Glu Glu Arg Thr Leu Lys Gln Lys Val Glu Asn
740 745 750

Leu Leu Leu Glu Ala Glu Lys Arg Cys Ser Leu Leu Asp Cys Asp Leu
755 760 765

Lys Gln Ser Gln Gln Lys Ile Asn Glu Leu Leu Lys Gln Lys Asp Val
770 775 780

Leu Asn Glu Asp Val Arg Asn Leu Thr Leu Lys Ile Glu Gln Glu Thr
785 790 795 800

Gln Lys Arg Cys Leu Thr Gln Asn Asp Leu Lys Met Gln Thr Gln Gln
805 810 815

Val Asn Thr Leu Lys Met Ser Glu Lys Gln Leu Lys Gln Glu Asn Asn

820

825

830

His Leu Met Glu Met Lys Met Asn Leu Glu Lys Gln Asn Ala Glu Leu

835

840

845

Arg Lys Glu Arg Gln Asp Ala Asp Gly Gln Met Lys Glu Leu Gln Asp

850

855

860

Gln Leu Glu Ala Glu Gln Tyr Phe Ser Thr Leu Tyr Lys Thr Gln Val

865

870

875

880

Arg Glu Leu Lys Glu Glu Cys Glu Glu Lys Thr Lys Leu Gly Lys Glu

885

890

895

Leu Gln Gln Lys Lys Gln Glu Leu Gln Asp Glu Arg Asp Ser Leu Ala

900

905

910

Ala Gln Leu Glu Ile Thr Leu Thr Lys Ala Asp Ser Glu Gln Leu Ala

915

920

925

Arg Ser Ile Ala Glu Glu Gln Tyr Ser Asp Leu Glu Lys Glu Lys Ile

930

935

940

Met Lys Glu Leu Glu Ile Lys Glu Met Met Ala Arg His Lys Gln Glu
945 950 955 960

Leu Thr Glu Lys Asp Ala Thr Ile Ala Ser Leu Glu Glu Thr Asn Arg
965 970 975

Thr Leu Thr Ser Asp Val Ala Asn Leu Ala Asn Glu Lys Glu Glu Leu
980 985 990

Asn Asn Lys Leu Lys Asp Val Gln Glu Gln Leu Ser Arg Leu Lys Asp
995 1000 1005

Glu Glu Ile Ser Ala Ala Ala Ile Lys Ala Gln Phe Glu Lys Gln
1010 1015 1020

Leu Leu Thr Glu Arg Thr Leu Lys Thr Gln Ala Val Asn Lys Leu
1025 1030 1035

Ala Glu Ile Met Asn Arg Lys Glu Pro Val Lys Arg Gly Asn Asp
1040 1045 1050

Thr Asp Val Arg Arg Lys Glu Lys Glu Asn Arg Lys Leu His Met
1055 1060 1065

Glu Leu Lys Ser Glu Arg Glu Lys Leu Thr Gln Gln Met Ile Lys
1070 1075 1080

Tyr Gln Lys Glu Leu Asn Glu Met Gln Ala Gln Ile Ala Glu Glu
1085 1090 1095

Ser Gln Ile Arg Ile Glu Leu Gln Met Thr Leu Asp Ser Lys Asp
1100 1105 1110

Ser Asp Ile Glu Gln Leu Arg Ser Gln Leu Gln Ala Leu His Ile
1115 1120 1125

Gly Leu Asp Ser Ser Ser Ile Gly Ser Gly Pro Gly Asp Ala Glu
1130 1135 1140

Ala Asp Asp Gly Phe Pro Glu Ser Arg Leu Glu Gly Trp Leu Ser
1145 1150 1155

Leu Pro Val Arg Asn Asn Thr Lys Lys Phe Gly Trp Val Lys Lys
1160 1165 1170

Tyr Val Ile Val Ser Ser Lys Lys Ile Leu Phe Tyr Asp Ser Glu
1175 1180 1185

Gln Asp Lys Glu Gln Ser Asn Pro Tyr Met Val Leu Asp Ile Asp
1190 1195 1200

Lys Leu Phe His Val Arg Pro Val Thr Gln Thr Asp Val Tyr Arg
1205 1210 1215

Ala Asp Ala Lys Glu Ile Pro Arg Ile Phe Gln Ile Leu Tyr Ala
1220 1225 1230

Asn Glu Gly Glu Ser Lys Lys Glu Gln Glu Phe Pro Val Glu Pro
1235 1240 1245

Val Gly Glu Lys Ser Asn Tyr Ile Cys His Lys Gly His Glu Phe
1250 1255 1260

Ile Pro Thr Leu Tyr His Phe Pro Thr Asn Cys Glu Ala Cys Met
1265 1270 1275

Lys Pro Leu Trp His Met Phe Lys Pro Pro Pro Ala Leu Glu Cys
1280 1285 1290

Arg Arg Cys His Ile Lys Cys His Lys Asp His Met Asp Lys Lys
1295 1300 1305

Glu Glu Ile Ile Ala Pro Cys Lys Val Tyr Tyr Asp Ile Ser Thr
1310 1315 1320

Ala Lys Asn Leu Leu Leu Leu Ala Asn Ser Thr Glu Glu Gln Gln
1325 1330 1335

.... Lys Trp Val Ser Arg Leu Val Lys Lys Ile Pro Lys Lys Pro Pro
1340 1345 1350

Ala Pro Asp Pro Phe Ala Arg Ser Ser Pro Arg Thr Ser Met Lys
1355 1360 1365

Ile Gln Gln Asn Gln Ser Ile Arg Arg Pro Ser Arg Gln Leu Ala

1370

1375

1380

Pro Asn Lys Pro Ser

1385

<210> 20

<211> 11

<212> PRT

<213> Human adenovirus type 1

<400> 20

Tyr Gly Arg Lys Lys Arg Arg Gln Arg Arg Arg

1

5

10

<210> 21

<211> 6439

<212> DNA

<213> Human adenovirus type 1

<400> 21

aaatattttt gactagcgga ggctagaagg agagagatgg gtgcgagagc gtcagtatta 60

agcgggggag aattagataa atgggaaaaa attcggttaa ggccaggggg aaagaaaaca 120

tataaattaa aacatatagt atgggcaagc agggagctag aacgcttcgc agttaaccct 180

ggcctgttag aaacatcagg aggctgtaga caaatattga aacagctaca tccatctctt 240

cagacaggat cagaagaact taaatcatta tataatacag tagcaaccct ctattgtgtg 300

catcaaagga tagagataag agacaccaag gaagcttttag acaagataga ggaagagcaa 360

aataaatgta agaaaaggga acagcaagca gcagctgaca caggaaacag cagccaggtc 420

agccaaaatt accctatagt gcagaacctc caggggcaaa tggtagatca gtccatatca 480

cctaggactt taaatgcatg ggtaaaagta gtagaagaga aggcttttag cccagaagta 540

atacctatgt tttcagcatt atcagaagga gccacccac aagatttaaa caccatgcta 600

aacacagtgg gaggacatca agcagctatg caaatgttaa aagaaacat caatgaggaa 660

gctgcagaat gggatagaat gcacccagtg catgcagggc ctgttgcacc aggccagatg 720

agagaaccaa ggggaagtga tatagcarga actactagta cccttcagga acaaatacaa 780

tgtagatgaca gtaatccacc tgtcccagta ggagaaatct ataaaagatg gataatcctg 840

ggattaaata aaatagtaag aatgtatagt cctaccagca ttctggacat aaaacaagga 900

ccaaaggaac ccttttagaga ctatgtagac cgtttctata aaactctaag agccgagcaa 960

gcttcacagg aagtaaaagg ttggatgaca gaaaccttgt tgggtccaaaa tgccaaccca 1020

gattgtaaga ctattttaaa agcattagga ccaggagcta cactagaaga aatgatgaca 1080

gcatgtcagg gagtgggggg acccgccac aaagcaagag ttttggtga agcaatgagc 1140

caagtaacaa attcagccac cataatgatg cagagaggca attttagaaa tcaaagaaaa 1200

actgttaagt gtttcaactg tggcaaagaa gggcatatag ccagaaattg cagggcccct 1260

aggaaaaagg gctgttgga atgtggacag gaaggacacc aaatgaaaga ttgtactgaa 1320

agacaggcta attttttagg gaaaatctgg cttcccaca aggggaggcc gggaaacttt 1380

cttcagagca gaccagagcc aacagcccca ccagaggaga gtgtcaggtt tggggaagag 1440

acagcaactc cttctcagaa gcaggggacg atagacaagg aactgtatcc tttagcttcc 1500

ctcagatcac tctttggcaa cgaccctcg tcacaataaa gatagggggg caactaaagg 1560

aagccctatt agatacagga gcagatgata cagtattaga agaaatgaat ttgccaggaa 1620

gatggaaacc aaaaatgata gggggaattg gaggctttat caaagtaaga cagtatgatc 1680

agatacccct agaaatttgt ggacataaag ctataggtac agtattagta ggacctacac 1740

ctgtcaacat aattggaaga aatctgttga ctcagattgg atgcacttta aattttccca 1800

ttagtcctat tgaaactgta ccagtaaaat taaagccagg aatggatggc ccaaagtta 1860

aacaatggcc attgacagaa gaaaaataa aagcattaac agaaatttgt gcagacatgg 1920

aaaaagaagg gaaaatttca aaaattgggc ctgaaaatcc atacaatact ccagtatttg 1980

ccataaagaa aaaagacagt actaaatgga gaaaattagt agatttcaga gaacttaata 2040

agagaactca agacttctgg gaagttcaat taggaatacc acatcccga gggttaaaaa 2100

agaaaaaatc agtaacagta ctagatatag gtgatgcata tttttcagta cccttagaca 2160

gagaattcag gaagtatact gcatttacca tacctagtat aaacaatgag acaccaggga 2220

ttagatatca gtacaatgtg ctccacagg ggtggaaagg atcaccagca atatttcaaa 2280

gtagcatgat aaaaatctta gagcctttta ggaagcaaaa tccagaatta gttatctatc 2340

aatacatgga tgatttgtat gtaggatcag acttagaaat agggcaacat agaacaaaaa 2400

tagaagaact aagacaacat ctgttgaggt ggggattaac cacaccagac aaaaagcatc 2460

agaaagaacc cccattcctt tggatgggct atgagctcca tcctgataaa tggacagtac 2520

agcctataat gctgccagag aaggatagct ggactgtcaa tgacatacag aagttagtgg 2580

gaaaattgaa ttgggcaagc cagatttatg cagggattaa agtaaggcaa ttatgtaaac 2640

tccttagggg aaccaaagca ctaacagaag tagtgcctct aacagaagaa gcagagctag 2700

agctggcaga aaacagggag attctaaaag aaccagtaca tggagtgtat tatgacccat 2760

caaaagattt aatagcagaa atacaaaagc agggacaagg ccaatgggtca tatcaaattt 2820

atcaagaacc atttaaaaat ctgaaaacag gaaagtatgc aagaacgagg ggtgcccaca 2880

ctaatgatgt aagacaatta acagaggcag tgcaaaaaat aaccacagaa agcatagtaa 2940

tatggggaaa gactcctaaa tttaaactgc ctatacaaaa ggaaacatgg gaaacatggt 3000

ggacagagta itggcaagcc acctggattc ctgagtggga gtttgtcaat acccctccct 3060

tagtgaaatt atgggtaccag ttagagaaag aaccattat aggagcagaa actttctatg 3120

tagatggagc tgctaatagg gagactaaat taggaaaagc aggatatgtt actgacagag 3180

gaagacaaaa agttgtctcc ctaactgaca caacaaatca gaagactgag ttacaagcaa 3240

ttcatctagc tctgcaggat tcgggattag aggtaaacat agtaacagac tcacaatatg 3300

cattaggaat cattcaagca caaccagata aaagtgaatc agaggtagtt aatcaaataa 3360

tagagcagtt aatcaacaag gaaaaagtct acctggcatg ggtaccagca cacaaggaa 3420

ttggaggaaa tgaacaagta gataaattag tcagtgtctgg aatcaggaaa gtactatttt 3480

tagatggaat agataaggcc caggaagaac atgagaagta tcacagtaat tggagaacaa 3540

tggctagtga ttttaacctg ccacctgtgg tagctaaaga aatagtagcc agctgtgata 3600

aatgtcagct aaaaggagaa gccatacatg gacaagtaga ctgtagtcca ggaatatggc 3660

aactagattg tacacattta gaaggaaaag ttatcctggt agcagtccat gtagccagtg 3720

ggtacataga agcagaagtt attccagcag agacagggca ggaaacagca tactttatct 3780

taaaattagc aggaagatgg ccagtaaaaa caatacatag agacaatggc agcaatttca 3840

ccagcgctac ggttaaagcc gcctgttggt gggcagggat caagcaggaa tttggcattc 3900

cctacaatcc ccaaagtcaa ggagtagtag aatctatgaa taaagaatta aagaaaataa 3960

taggacagat aagagatcag gctgagcatc ttaagacagc agtacaaatg gcagtatttg 4020

tccacaattt taaaagaaaa ggggggattg gggactacag tgcaggggaa agaataatag 4080

acataatagc aacagacata caaaccaaag aactacaaaa acaaattaca aaaattcaaa 4140

attttcgggt ttattacagg gacagcagag atccactttg gaaaggacca gcaaagctcc 4200

tctggaaagg tgaaggggca gtagtaatac aagataatag tgatataaaa gtagtgccaa 4260

gaaggaaagc aaagatcatt agggattatg gaaaacagat ggcaggtaat gattgtgtgg 4320

caagtagaca ggatgaggat tagcacatgg aaaagtttag taaaacacca tatgtatatt 4380

tcaaagaaag ctaagggatg gttttataga catcactatg aaagcactca tccaaaaata 4440

agttcagaag tacacatccc actaggggat gatagattgg taataacaac atattggggt 4500

ctgcatacag gagaaagaga ctggcatttg ggtcaaggag tctccataga atggaggaaa 4560
aggagatata gaacacaagt agaccctgaa ctagcagacc aactaattca tctgtactac 4620
tttgactgtt tttcagaatc tgctataaga aatgccatat taggacgtat agttagtcct 4680
aggtgtgaat atcaagcagg acataataag gtaggatctc tacaatactt ggcactagca 4740
gcattaataa aaccaagaag gacaaagcca cctttgccta gtgttacgaa actgacagag 4800
gatagatgga acaagcccca gaaaaccaag ggccgcagag ggagccatac aatgaatgga 4860
cactagagct tttagaagag cttaagaatg aagctgttag acattttcct tggacatggc 4920
ttcatggctt aggacaatat atctatgaaa cttatgggga tacttgggca ggagtgggaag 4980
ccataataag aattctgcaa caactgctgt ttattcattt cagaattggg tgtcgacata 5040
gcagaatagg cattaacatt caacggagga gagcaagaaa tggagccagt agatcctaaa 5100
ttagagccct ggaagcatcc aggaagtcag cctaaaactg cttgtaacaa ttgctattgt 5160
aaagtgtgtt gctttcattg ccaagtttgt ttcacaaaaa aaggcttagg catctcctat 5220
ggcaggaaga agcggagaca gcgacgaaga gtcctcagg acagtcagac tcatcaagct 5280
cctctaccaa agcagtaagt agtaaagtga atgcaatctc tagcaatatt agcaatagta 5340
gctttagtag tagcagcaat actagcaata gttgtgtgga ccatagtatt catagaatat 5400

aggaaaatag taaggcaaag aaaaatagac aggttactta atagaatagc agaaagagca 5460

gaagacagtg gcaatgaaag tgaaggagat caggaggaat tatcagcact tgtggtggag 5520

agggggcacc ttgctccttg ggatattgat gatctgtagt gctgaggagt tgtgggtcac 5580

agtctattat ggggtgcctg tgtggaaaga agcaaccacc actctatitt gtgcctcaga 5640

tgctaaagct tatgatacag aggtgcataa tgtttgggct acacatgcct gtgtaccac 5700

agacccaac ccacaagaag tattattggg aatgtgaca gaaaatttta acatgtggaa 5760

aaataacatg gtagaacaaa tgcattgagga tatcatcagt ctatgggatc aaagtttaaa 5820

accatgtgta aaattaactc cactctgtgt tactttaaat tgcactgacg ttgatgggaa 5880

gaatgctact aataccaata gtagtattaa aggagaaata aaaaactgct ctttcgatat 5940

caccacaaac ataagagata aggtggagag acaatatgca tgtttttcta gtcttgatgt 6000

agtaccaata gaagagggtg atactagcca taatactagc tataggttaa taagttgtaa 6060

cactcagtc attacacagg cctgtccaaa ggtatccttt gagccaattc ccatacatta 6120

ctgtgccccg gctggttttg cgattctaaa atgtaatgat aaraaattta atggaacagg 6180

atcatgtaaa aatgtcagta cagtacaatg tacacatgga attaaaccag tagtatcaac 6240

tcaactgctg ttaaattggca gtctagcaga agaagagata gtaattagat ctgagaattt 6300
cacgaacaat gctaaaacta taatagtaca gctgaataaa actatacaaa ttaattgtat 6360
aagacccaac aacaatacaa gaagaggtat acatatagga ccagggagag cattttatgg 6420
aacagacata ataggagat 6439

<210> 22

<211> 495

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 22

atgtcagaac cggctgggga tgtccgtcag aacccatgcg gcagcaaggc ctgccgccgc 60
ctcttcggcc cagtggacag cgagcagctg agacgcgact gtgatgcgct aatggcgggc 120
tgcatccagg aggcccgtga gcgatggaac ttcgactttg tcaccgagac accactggag 180
ggtgacttcg cctgggagcg tgtgcggggc cttggcctgc ccaagctcta ccttcccacg 240
gggccccggc gaggccggga tgagttggga ggaggcaggc ggcctggcac ctcacctgct 300
ctgctgcagg ggacagcaga ggaagacat gtggacctgt cactgtcttg tacccttggtg 360
cctcgctcag gggagcaggc tgaagggtcc ccaggtggac ctggagactc tcagggtcga 420

aaacggcggc agaccagcat gacagatttc taccactcca aacgccggct gatcttctcc 480

aagaggaagc cctaa 495

<210> 23

<211> 164

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 23

Met Ser Glu Pro Ala Gly Asp Val Arg Gln Asn Pro Cys Gly Ser Lys

1 5 10 15

Ala Cys Arg Arg Leu Phe Gly Pro Val Asp Ser Glu Gln Leu Ser Arg

20 25 30

Asp Cys Asp Ala Leu Met Ala Gly Cys Ile Gln Glu Ala Arg Glu Arg

35 40 45

Trp Asn Phe Asp Phe Val Thr Glu Thr Pro Leu Glu Gly Asp Phe Ala

50 55 60

Trp Glu Arg Val Arg Gly Leu Gly Leu Pro Lys Leu Tyr Leu Pro Thr

出証特 2 0 0 4 - 3 0 3 7 3 5 0

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> substrate

<400> 24

Ala Lys Arg Arg Arg Leu Ser Ser Leu Arg Ala

1 5 10

<210> 25

<211> 72

<212> PRT

<213> Human adenovirus type 1

<400> 25

Met Glu Pro Val Asp Pro Lys Leu Glu Pro Trp Lys His Pro Gly Ser

1 5 10 15

Gln Pro Lys Thr Ala Cys Asn Asn Cys Tyr Cys Lys Val Cys Cys Phe

20 25 30

His Cys Gln Val Cys Phe Thr Lys Lys Gly Leu Gly Ile Ser Tyr Gly

35 40 45

Arg Lys Lys Arg Arg Gln Arg Arg Arg Ala Pro Gln Asp Ser Gln Thr

50

55

60

His Gln Ala Pro Leu Pro Lys Gln

65

70

【図面の簡単な説明】

【図1】

図1は、MAGのニューロンに対する効果が、p75^{NTR}に依存することを示す。(A)分離DRGニューロンを、MAG-Fcの有りまたは無しで24時間インキュベートし、次いで、ニューロン特異的β-チューブリンIIIタンパク質を認識するモノクローナル抗体(TuJ1)を用いて免疫染色した。p75(+/-)は、野生型p75^{NTR}遺伝子を有するマウスであり、p75(-/-)は、p75^{NTR}に変異を有するマウスである。(B)これは、1ニューロンあたりの、最も長い神経突起の平均長である。データは、平均±平均値の標準誤差である。アステリスクは、統計上の有意性を示す(*P<0.01、スチューデントのT検定)。(C)これは、1ニューロンあたりの、最も長い神経突起の平均長である。分離小脳ニューロンを、MAG-Fcの有りまたは無しで24時間インキュベートした。

【図2】

図2は、MAGがp75^{NTR}依存性機構を介してRhoAを活性化することを示す。(A)これは、野生型マウス由来のMAG処理DRGニューロンに対する、C3トランスフェラーゼの効果を示し、1ニューロンあたりの、最も長い神経突起の平均長である。データは、平均±平均値の標準誤差である。アステリスクは、統計上の有意性を示す(*P<0.01、スチューデントのT検定)。(

B) MAG-Fc の 293 細胞への結合を、FITC タグ化抗ヒト IgG を用いたインキュベーションによって可視化した。(C) これは、トランスフェクトした 293 細胞での Rh o A のアフィニティー沈降である。MAG-Fc ($25 \mu\text{g}/\text{ml}$) は、293 細胞が p 75 NTR を発現する場合のみ、Rh o A の活性化を誘発する。

【図 3】

図 3 は、生後小脳ニューロンでの Rh o A のアフィニティー沈降を示す。(A) Rh o A 活性は、MAG-Fc ($25 \mu\text{g}/\text{ml}$) の添加後に増大した。Rh o A 活性を、溶解物中の Rh o A 量に対して正規化した RBD 結合 Rh o A の量によって示す。値は、時間 0 における細胞と比較した、Rh o A 活性を示す。結果は、3 回の実験からの平均土標準誤差を示す。アステリスクは、統計上の有意性を示す (* $P < 0.01$ 、スチューデントの T 検定)。(B) これは、NGF が Rh o A 活性をすぐに阻害する (約 10 分) ことを示す。(C) これは、MAG の用量応答を示す。(D) これは、活性化が p 75 NTR 遺伝子に変異を有するマウス由来のニューロンにおいて失われていることを示す。

【図 4】

図 4 は、p 75 NTR および MAG 結合の同時局在を示す。(A) DRG ニューロンを、抗 p 75 NTR 抗体および Alexa fluorTM 568 結合二次抗体を用いて染色した。MAG-Fc の結合を、FITC タグ化抗ヒト IgG を用いたインキュベーションによって可視化した。共焦点顕微鏡での観察を、ZEISS LSM-510 レーザー型走査顕微鏡で実行した。p 75 NTR (左)、MAG 結合 (中)、および重ね合わせた画像 (右) のそれぞれの、代表的な 1 つの視野を示す。神経突起上のマーカーの近接が、p 75 NTR 免疫反応性を有するほとんどのニューロン中で観察された。(B) これは、p 75 NTR 遺伝子に変異を保有するマウス由来の DRG ニューロンへの MAG-Fc の結合を示す。

【図 5】

図 5 は、MAG、p 75 NTR および GT1b の会合を示す。(A) これは、P9 小脳から調製した溶解物を用いた、p 75 NTR と MAG-Fc との同時沈

降を示す。MAG-Fc沈降物において、p75^{NTR}に対応するタンパク質の存在が抗p75^{NTR}抗体によって明らかになった。(B)これは、組換えp75^{NTR}とGT1bとの同時免疫沈降である。会合を、プロテインAセファローズおよびFc融合p75^{NTR}タンパク質を用いて生成した沈降物のウェスタンブロット分析によって調べた。抗GT1b抗体によって100kDタンパク質の存在が明らかとなり(左)、このタンパク質は、抗p75^{NTR}抗体によってp75^{NTR}であることが明らかとなった(右)。(C)これは、組換えp75^{NTR}と他のガングリオシドとの同時沈降である。(D)これは、P9小脳から調製した溶解物を用いた、p75^{NTR}とGT1bとの同時免疫沈降である。GT1b免疫沈降物において、p75^{NTR}に対応するタンパク質の存在が抗p75^{NTR}抗体によって明らかとなった。下のバンドは、使用した抗体のIgに対応する。(E)これは、トランスフェクトした293細胞を用いたp75^{NTR}およびGT1bの同時免疫沈降である。p75^{NTR}免疫沈降物において、抗GT1b抗体によってタンパク質の存在が明らかとなり(左)、このタンパク質は、抗p75^{NTR}抗体によってp75^{NTR}であることが示された(右)。

【図6】

図6は、p75^{NTR}とRhogDIとの同時免疫沈降である。(a)これは、トランスフェクトした293T細胞から調製した溶解物を用いた、p75^{NTR}とRhogDIまたはRhogAとの同時免疫沈降である。p75^{NTR}免疫沈降物において、RhogDIに対応するタンパク質の存在が抗RhogDI抗体によって明らかになった。(b)これは、トランスフェクトされたN1E-115細胞におけるp75^{NTR}とRhogDIまたはRhogAとの相互作用に対する、MAGおよびNogoの効果を示す。データは、平均±標準誤差である。アステリスクは、統計上の有意性を示す、*； $p < 0.01$ (スチューデントのt検定)。(c)これは、小脳ニューロンから調製した溶解物を用いた、p75^{NTR}とRhogDIとの同時免疫沈降である。会合は、MAG処理細胞およびNogo処理細胞中で観察した。

【図7】

図7は、p75^{NTR}がRhogDIと直接会合することを示す。(a)こ

れは、p 75 NTR と組換え GST-Rho GDI または組換え GST-Rho A との同時沈降を示す。会合は、精製 p 75 NTR およびプロテイン A セファロースを用いて生成された沈降物のウエスタンブロット分析によって調べた。抗 GST 抗体によって、複合体中の Rho GDI の存在が明らかになった。(b) これは、Rho GDI と p 75 NTR の欠失変異体との同時免疫沈降である。この欠失変異体のための構築物の模式図を示す。示した番号は、この変異体の残基に対応する。(c) これは、トランスフェクトした 293 T 細胞中の Rho A のアフィニティー沈降である。p 75 NTR の全長または p 75 NTR ICD の過剰発現は、Rho A の活性化を誘発するが、第 5 ヘリックスを欠く変異 p 75 NTR は、Rho A を活性化しない。

【図 8】

図 8 は、p 75 NTR が Rho GDI 活性を低減することを示す。(a) p 75 NTR は、Rho A のグアニンヌクレオチド交換因子ではない。30 分間で ^3H 標識 GDP の Rho A からの解離を誘導するタンパク質の能力を、測定した。GST タンパク質またはインキュベーション緩衝液を、コントロールとして使用した。このグラフは、結合したままの初期 ^3H -GDP の相対量の平均 ± 3 つの独立した実験からの標準誤差を示す。*、 $p < 0.01$ (スチューデントの t 検定)。(b) p 75 NTR HD は、インビトロで Rho GDI 活性を阻害する。Rho GDI と複合体化した Rho A の GDP/GTP 交換反応を、p 75 NTR HD の存在下または非存在下で決定した。 $[^3\text{H}]$ GDP 解離アッセイにおいて、Rho GDI と複合体化した $[^3\text{H}]$ GDP-Rho A からの $[^3\text{H}]$ GDP の解離を、Rho A に結合した $[^3\text{H}]$ GDP の放射能を測定することによってアッセイした。 $[^35\text{S}]$ GTP γ S 結合アッセイにおいて、Rho GDI と複合体化した GDP-Rho A への $[^35\text{S}]$ GTP γ S の結合を、Rho A に結合した $[^35\text{S}]$ GTP γ S の活性を測定することによってアッセイした。黒丸、GST-p 75 NTR HD; 白四角、GST。*、 $p < 0.01$; (スチューデントの t 検定)。(c) p 75 NTR は、Rho GDI 活性を阻害する。Dbl で刺激した Rho A の GDP/GTP 交換反応を決定した。 $[^3\text{H}]$ GDP-Rho A-Rho GDI 複合体 (50 nM) を、90 n

M GST-Dbl および示された濃度の GST 融合タンパク質とインキュベートした。黒丸、GST-p75^{NTR} HD；白四角、GST；白三角 GST-p75^{NTR} ICD。*、 $p < 0.01$ ；（スチューデントの t 検定）。（d）Rho GDI の過剰発現は、MAG および Nogo の効果を破壊する。分離した小脳ニューロンの神経突起伸展に対する Rho GDI の効果を、評価した。左；コントロールプラスミドまたは Rho GDI プラスミドを用いて一過性にトランスフェクトした代表的な細胞の画像。MAG、MAG-Fc（ $25 \mu\text{g}/\text{ml}$ ）；Nogo、Nogo ペプチド（ $4 \mu\text{M}$ ）；Rho GDI、myc タグ化 Rho GDI でトランスフェクトした細胞。データは、平均±標準誤差である。アスタリスクは、統計上の有意性を示す、*； $p < 0.01$ （スチューデントの t 検定）。

【図 9】

図 9 は、Pep5 が Rho GDI と p75^{NTR} との相互作用を阻害することを示す。（a）p75^{NTR} と組換え GST-Pep5 との同時沈降。（b）Pep5 は、p75^{NTR} と Rho GDI との結合を用量依存的に阻害する。（c）これは、小脳ニューロンから調製した溶解物を用いた、p75^{NTR} と Rho GDI との同時免疫沈降である。この相互作用は、TAT-Pep5 によって破壊された。

【図 10】

図 10 は、Pep5 が p75^{NTR} の阻害作用をサイレント化することを示す。（a）分離 DRG ニューロンを、Nogo ペプチドの存在下または非存在下で 24 時間インキュベートし、次いで、ニューロン特異的 β チューブリン III タンパク質を認識するモノクローナル抗体（TuJ1）を用いて免疫染色した。Nogo、Nogo ペプチド；Pep5、TAT-Pep5。（b）DRG ニューロンの神経突起伸展。MAG、MAG-Fc；HD、p75^{NTR} HD（残基 368～381）に対応するペプチド；p75（+/+）、野生型；p75（-/-）、p75^{NTR} 遺伝子に変異を保有するマウス。データは、平均±標準誤差である。アスタリスクは、統計上の有意性を示す、*； $p < 0.01$ （スチューデントの t 検定）。（c）分離小脳ニューロンを、Nogo ペプチドの存在下

または非存在下で24時間インキュベートした。(d)小脳ニューロンの神経突起伸展。データは、平均±標準誤差である。アステリスクは、統計上の有意性を示す、*； $p < 0.01$ （スチューデントのt検定）。(e)小脳ニューロン中のRhoAのアフィニティー沈降。Nogopeプチド（ $4\mu\text{M}$ ）およびMAG-Fc（ $25\mu\text{g/ml}$ ）は、RhoAの活性化を誘発し、一方、TAT-Pep5（ $1\mu\text{M}$ ）は、これらの効果を完全に破壊した。

【図11】

図11は、p75NTRに対する抗体がミエリンシグナルを阻害することを示す。(a)解離小脳ニューロンを、ミエリン由来インヒビターの有りまたは無しで24時間インキュベートした。これは、1ニューロンあたりの、最も長い神経突起の平均長である。データは、平均値±平均値の標準誤差である。アステリスクは、統計上の有意性を示す；*、 $p < 0.01$ （スチューデントのt検定）。Nog、GST-Nog；Fc-p75、Fcと融合したp75NTRの細胞外ドメイン；p75-Ab、p75NTRに対する抗体；MAG、MAG-Fc。(b)これは、小脳ニューロンにおけるRhoAのアフィニティー沈降である。(c)これは、P9小脳から調製した溶解物を用いた、内因性p75NTRとNgRとの同時免疫沈降である。

【図12】

図12は、p75NTRに対する抗体がマウスCST線維の運動機能を向上し、出芽を増強することを示す。(a)抗p75抗体で処理したマウス（ $n=12$ ）の改変BBBスコアは、損傷後7日～4週目にわって、コントロール抗体で処理したマウス（ $n=12$ ）の改変BBBスコアよりも有意により高い回復であることが明らかになった。*、 $p < 0.05$ （スチューデントのt検定）、コントロール抗体で処理したマウスと比較。SCI、脊髄損傷。(b)抗p75抗体は、CST損傷後に軸索伸展を促進する。これは、損傷28日後の抗p75抗体で処理したマウスの、損傷部位に対して2mm尾方の灰白質の横断面における、順行性にBDA標識された軸索（矢印）である。スケールバー： $25\mu\text{m}$ 。(c)これは、CST領域に対して尾方の1横断面あたりの、BDAで標識された再生軸索の数である。データは、それぞれ、コントロールで処理した5匹のマウスま

たは5匹の抗p75抗体で処理した5匹のマウスからの、平均±標準誤差を示す。 $*$ 、 $p < 0.05$ (スチューデントの t 検定)、コントロール抗体で処理したマウスと比較。

【図13】

図13は、E5胚由来のヒヨコ網膜ニューロンが細胞質でp21Cip1/WAF1を発現することを示す。(A) E5胚由来のヒヨコ網膜を、抗p21Cip1/WAF1抗体を用いて免疫染色した。各パネルにおいて、右側が硝子体であり、左側が色素上皮である。(B) これは、E5胚由来のヒヨコ分離網膜細胞中のp21Cip1/WAF1免疫活性を示す。上のパネルは β -チューブリン免疫反応性を欠く細胞であり、下のパネルはニューロンである。

【図14】

図14は、DMSOで分化を誘導したN1E-115細胞におけるp21Cip1/WAF1の細胞レベル下の局在である。(A~C) これらは、抗p21Cip1/WAF1抗体を用いたp21Cip1/WAF1の免疫細胞化学染色である。DMSOなし(A)、DMSOを1日(B)、およびDMSOを4日(C)でインキュベートしたN1E-115細胞の代表的な特徴を示す。

【図15】

図15は、p21Cip1/WAF1の過剰発現によるN1E-115細胞の形態変化を示す。(A) これは、N1E-115細胞の増殖を示す。細胞を、6cmディッシュに播種し、トランスフェクトし、トランスフェクションの1日後および2日後に計数する。細胞数の相対的な増大を示す。この値は、3回の独立した実験の、平均値±平均値の標準誤差である。 $*$ 、 $P < 0.01$ 、full-p21と比較(スチューデントの t 検定)。GFPとGFP- Δ NLS-p21トランスフェクト細胞との間で有意な差異はなかった。(B) サイクリンD3およびpRbのウエスタンブロット分析である。N1E-115細胞を、DMSOで処理し、GFP-full-p21またはGFP- Δ NLS-p21でトランスフェクトし、1日目、2日目、3日目、および4日目に収集した。矢じりは、過剰にリン酸化されたpRbを示し、矢印は不十分なリン酸化状態のpRbを示す。(C) これは、DMSOで4日処理したN1E-115細胞またはGFP-

Δ NLS-p21でトランスフェクトしたN1E-115細胞中の、p21Cip1/WAF1の発現レベルである。(D) N1E-115細胞を、GFP (コントロール)、GFP-full-p21またはGFP- Δ NLS-p21でトランスフェクトした。各構築物でトランスフェクトした細胞の写真を示す。(E) これは、細胞の形態を定量化したものである。Y-27632 ($10\mu\text{M}$) に30分間曝したN1E-115細胞、またはGFP、GFP-full-p21もしくはGFP- Δ NLS-p21を発現するN1E-115細胞を、3つの群に分類した; 長い神経突起を有する細胞 (long neurite)、丸い形態の細胞 (round) および他の形態の細胞 (others)。データは、3回の独立した実験の、平均値±平均値の標準誤差である。*、 $P<0.05$ 、コントロールと比較。** $P<0.01$ 、コントロールならびにfull-p21と比較 (スチューデントのt検定)。

【図16】

図16は、細胞骨格機構に対する、細胞質p21Cip1/WAF1の効果を示す。(A) NIH3T3細胞を、GFP- Δ NLS-p21でトランスフェクトした。16時間の血清飢餓後、細胞を10%ウシ胎仔血清で処理し、固定し、ローダミン結合体化ファロイジンで染色した。(B) これは、張線維を含む細胞の定量化である。データは、3回の独立した実験の、平均値±平均値の標準誤差である。*、 $P<0.01$ 、GFPと比較 (スチューデントのt検定)。

【図17】

図17は、核p21Cip1/WAF1はRhoキナーゼを沈降しないが、細胞質p21Cip1/WAF1はRhoキナーゼを沈降することを示す。(A) これは、293T細胞中で異所性発現させたタンパク質の細胞レベル下での局在を示す。GFP-full-p21とGFP- Δ NLS-p21との間で局在に差異があることに留意すること。(B) 293T細胞を、GFP-full-p21またはGFP- Δ NLS-p21とmyc-Rhoキナーゼとで同時トランスフェクトした。溶解物を抗p21Cip1/WAF1抗体を用いて免疫沈降した。免疫複合体を電気泳動し、抗myc抗体を用いてプロットした。溶解物中のRhoキナーゼおよびp21Cip1/WAF1の発現を決定した。(C) これ

は、DMSO処理によって分化しているN1E-115細胞から調製した溶解物を用いて、p21Cip1/WAF1とRhoキナーゼとの相互作用を示す図である。免疫沈降したp21Cip1/WAF1を電気泳動し、抗Rhoキナーゼ抗体を用いて免疫ブロットした。抗マウスIgG抗体をネガティブコントロールとして使用した。(D)これは、組換え全長p21Cip1/WAF1とRhoキナーゼの触媒ドメイン(GST-CAT)とのインビトロ相互作用を示す図である。示した濃度のS6キナーゼ基質ペプチド(AKRRRLSSLRA)およびY-27632を共にインキュベートした。

【図18】

図18は、p21Cip1/WAF1がRhoキナーゼ活性を阻害することを示す。(A)Rhoキナーゼの活性を、示した濃度のp21Cip1/WAF1の存在下でアッセイした。パーセンテージは、p21Cip1/WAF1の非存在下でのCPMに対して比較して定量した。データは、3回の独立した実験の、平均値±平均値の標準誤差である。(B)Rhoキナーゼの活性を、Y-27632(10μM)に30分間曝した細胞、またはmyc-Rhoキナーゼ構築物およびp21Cip1/WAF1構築物を用いて同時トランスフェクトした細胞を用いて、アッセイした。Rhoキナーゼの発現を、ウエスタンブロットによって決定し、相対活性を正規化した。相対活性を、myc-RhoキナーゼおよびGFPを用いて同時トランスフェクトしたコントロール細胞中のCPMに対して比較して定量した。データは、3回の独立した実験の、平均値±平均値の標準誤差である。*、 $P < 0.001$ 、コントロールと比較(スチューデントのt検定)。

【図19】

図19は、細胞質p21Cip1/WAF1の過剰発現による海馬ニューロンの神経突起伸長および分枝を示す。(A)これは、コンピュータトレースによる、GFPまたはGFP-ΔNLS-p21を用いてトランスフェクトした海馬ニューロンの形態を示す。初代海馬ニューロンを、GFP(コントロール)またはGFP-ΔNLS-p21(ΔNLS-p21)を用いてトランスフェクトした。ニューロンを抗β-チューブリンIII抗体を用いて免疫染色し、画像分析コ

ンピュータソフトウェアを用いてトレースした。バーは $10\ \mu\text{m}$ を示す。(B) これは、GFP または GFP- $\Delta\text{NLS-p}21$ でトランスフェクトした初代海馬ニューロンの形態分析である。 $\Delta\text{NLS-p}21$ でトランスフェクトしたニューロンにおいて、1ニューロンあたりの、総神経突起長、軸索長、および分枝点の数は、GFP でトランスフェクトニューロンのものと比較して増加した。データは、3回の独立した実験の、平均値 \pm 平均値の標準誤差である。*、 $P < 0.001$ 、コントロールと比較 (スチューデントの t 検定)。

【図 20】

図 20 は、TAT の PTD ドメインと融合させた p21 の構築物 (下) およびコントロール構築物 (上) の略図を示す。

【図 21】

図 21 は、脊髄を損傷させたラットの、p21 構築物による機能回復を示す。脊髄損傷後の 2 日から 6 週間にわたって観察を行った。

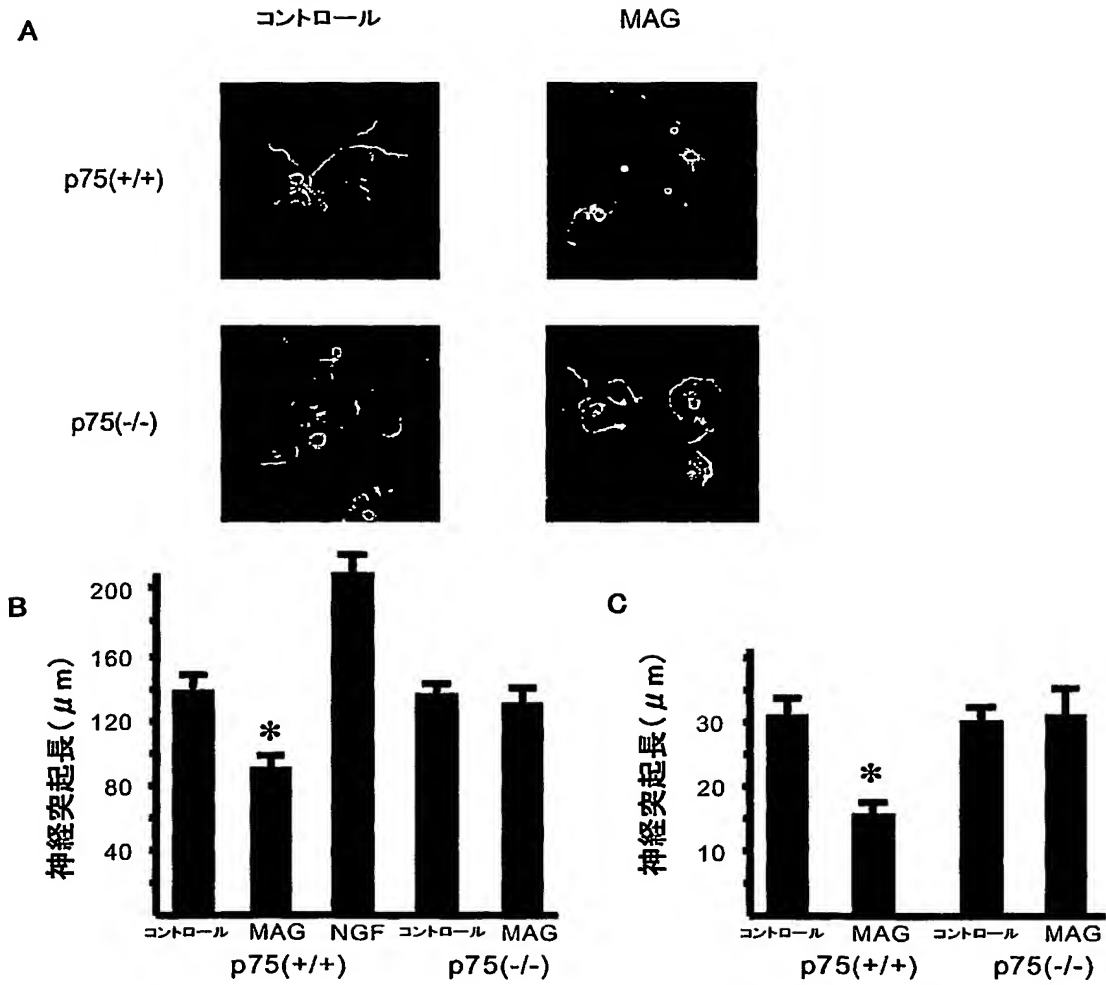
【図 22】

図 22 は、再生阻害に関与するシグナル伝達経路を示す。

【書類名】 図面

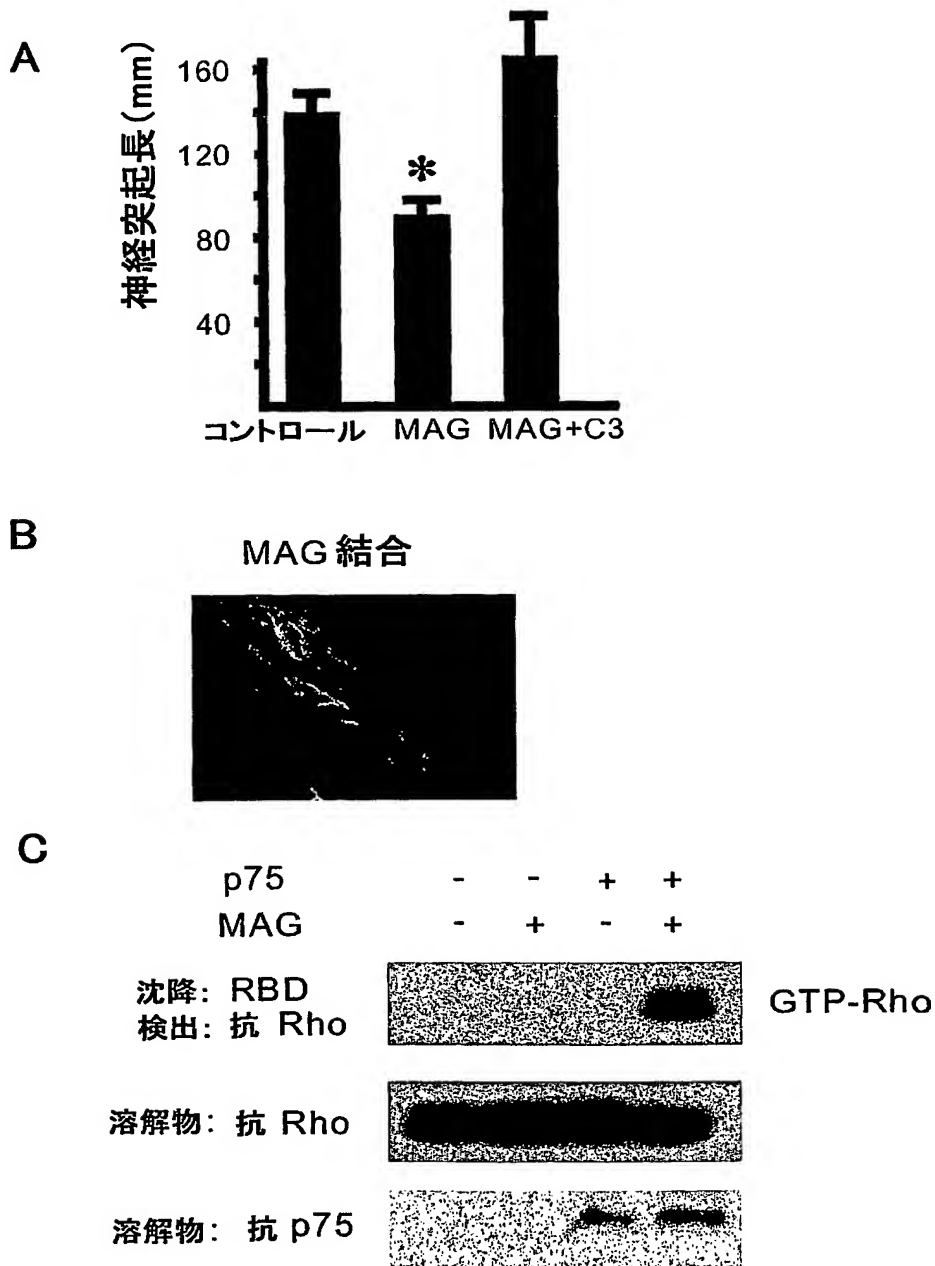
【図 1】

整理番号
【図1】



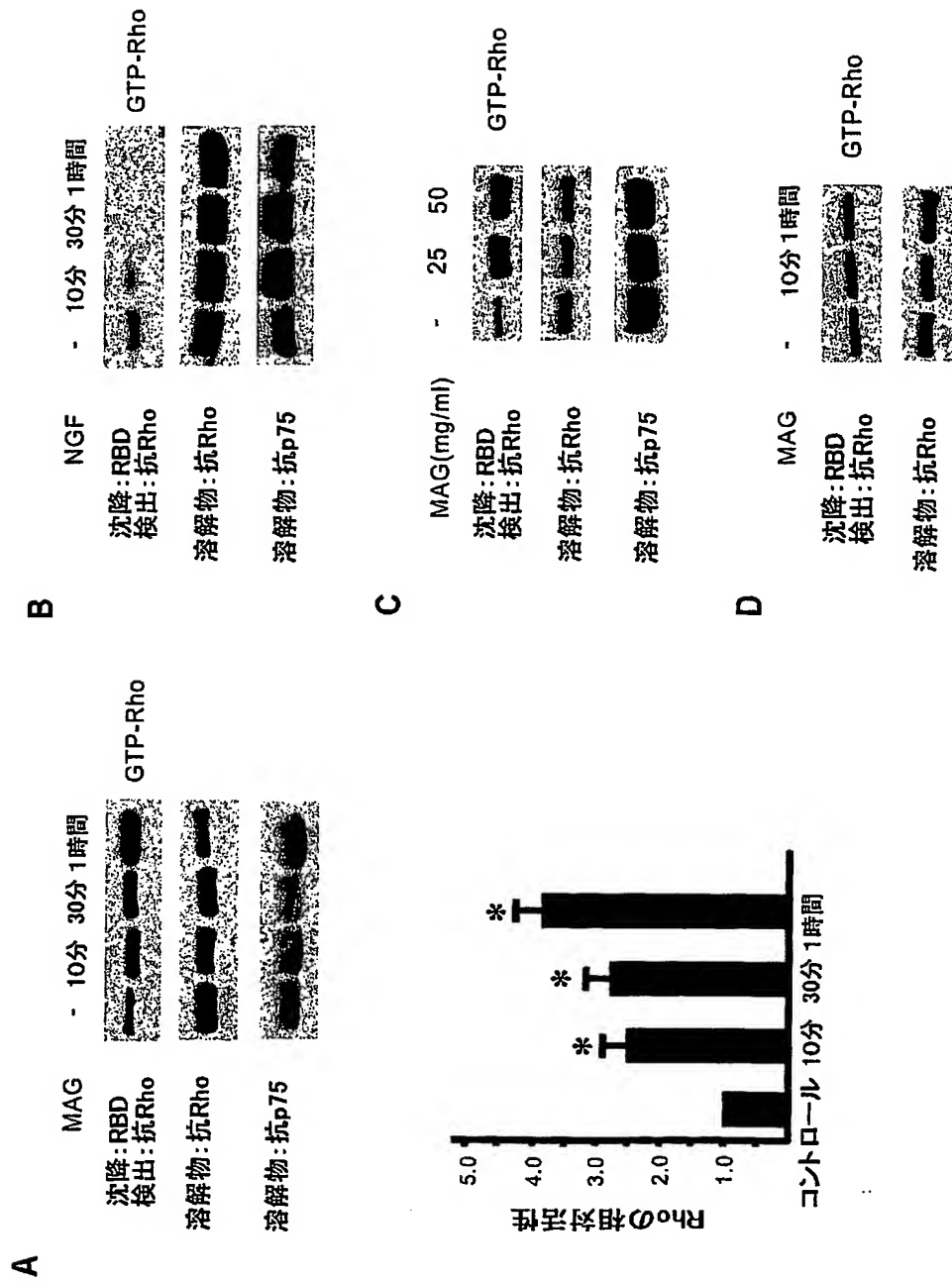
【図 2】

整理番号
【図2】



【図 3】

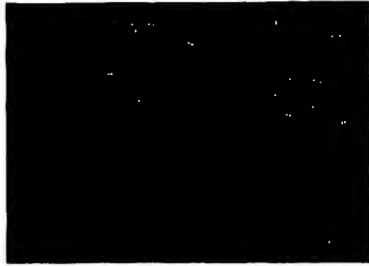
整理番号
【図3】



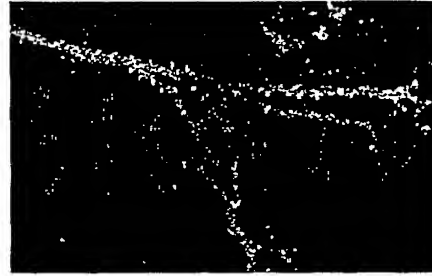
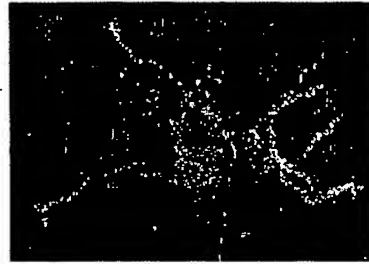
【図4】

整理番号
【図4】

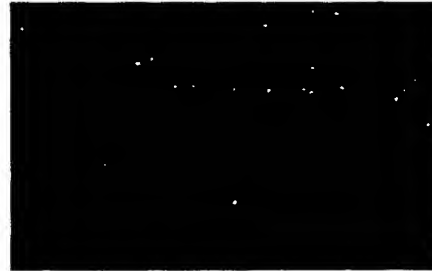
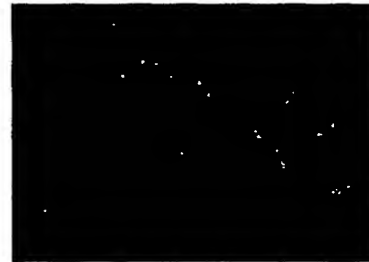
B MAG 結合



重ね合わせ



MAG 結合

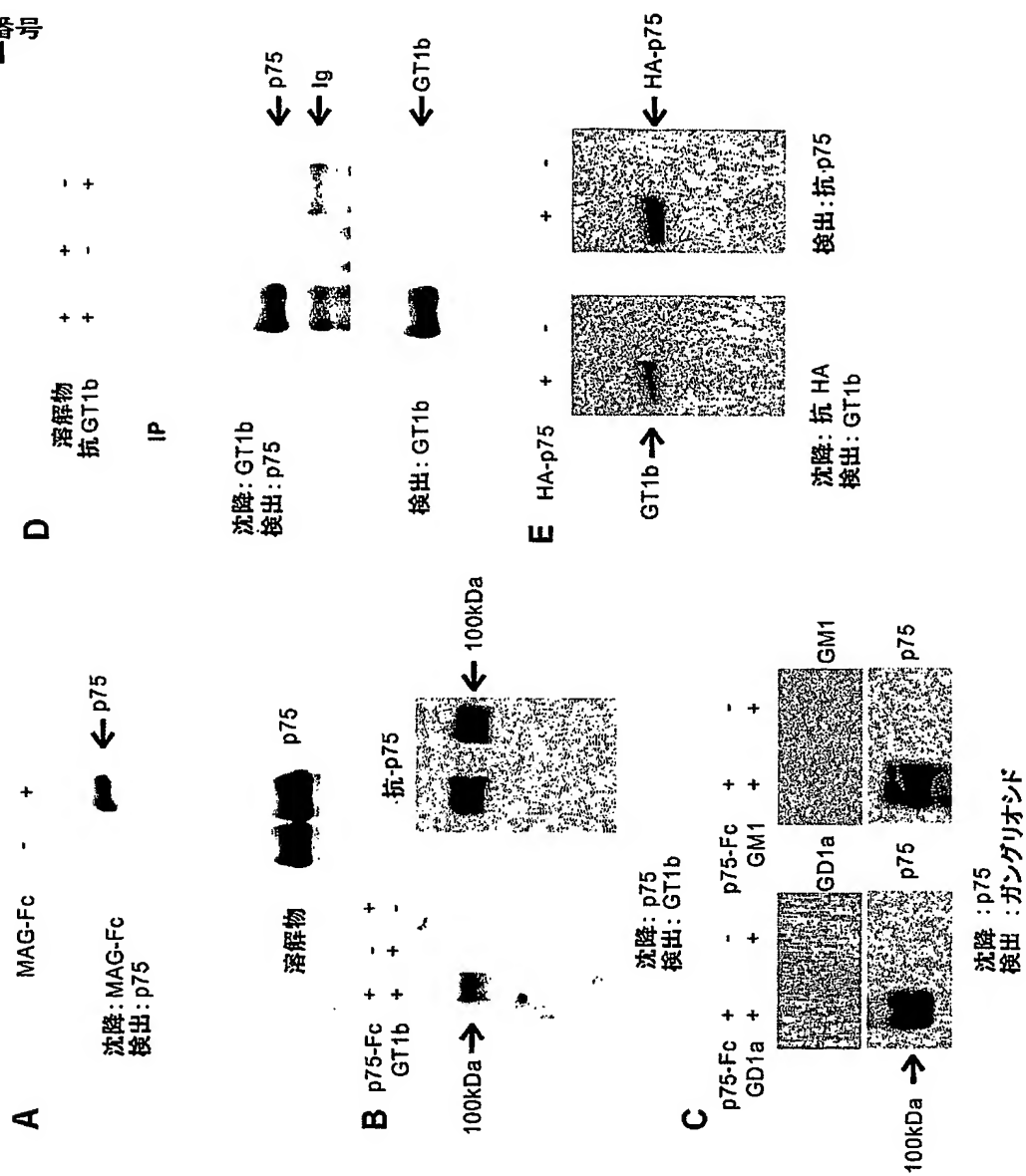


p75^{NTR}



A

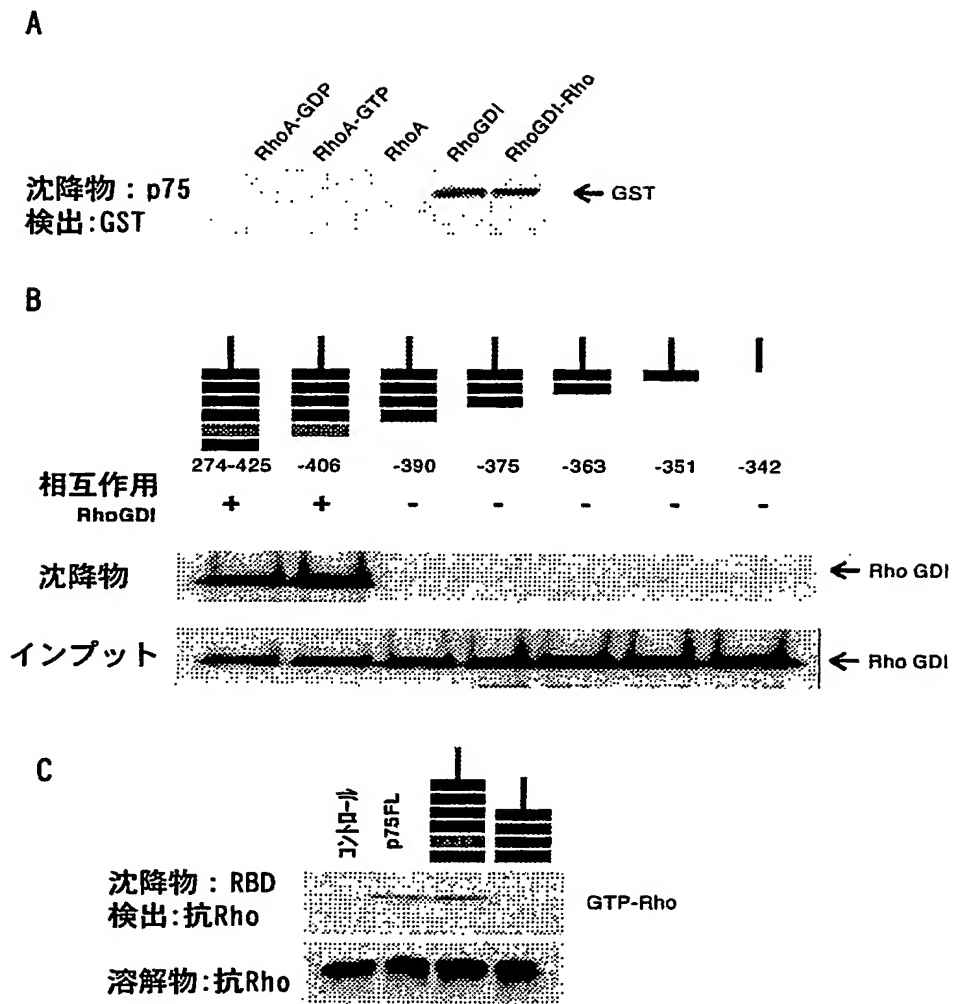
【図 5】

整理番号
【図5】

【図 7】

整理番号

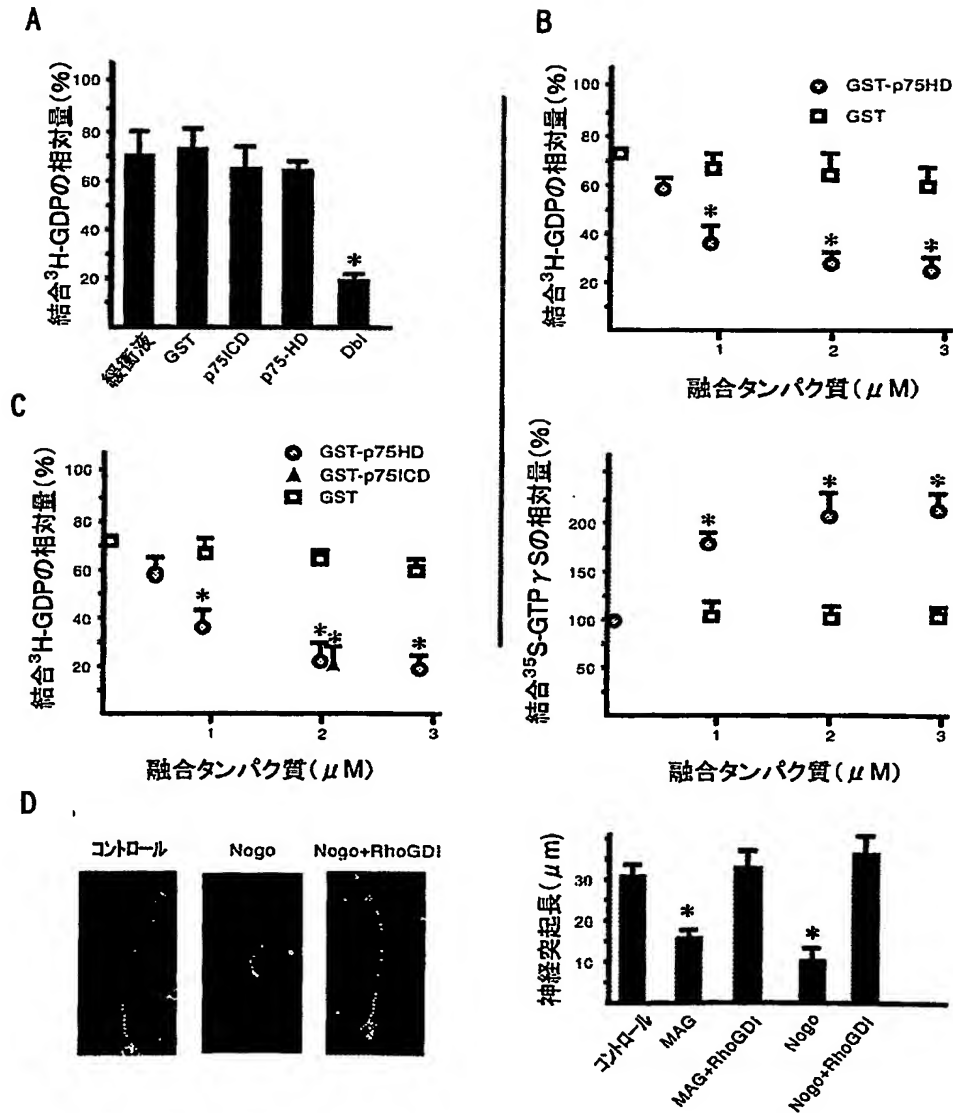
【図7】



【図8】

整理番号

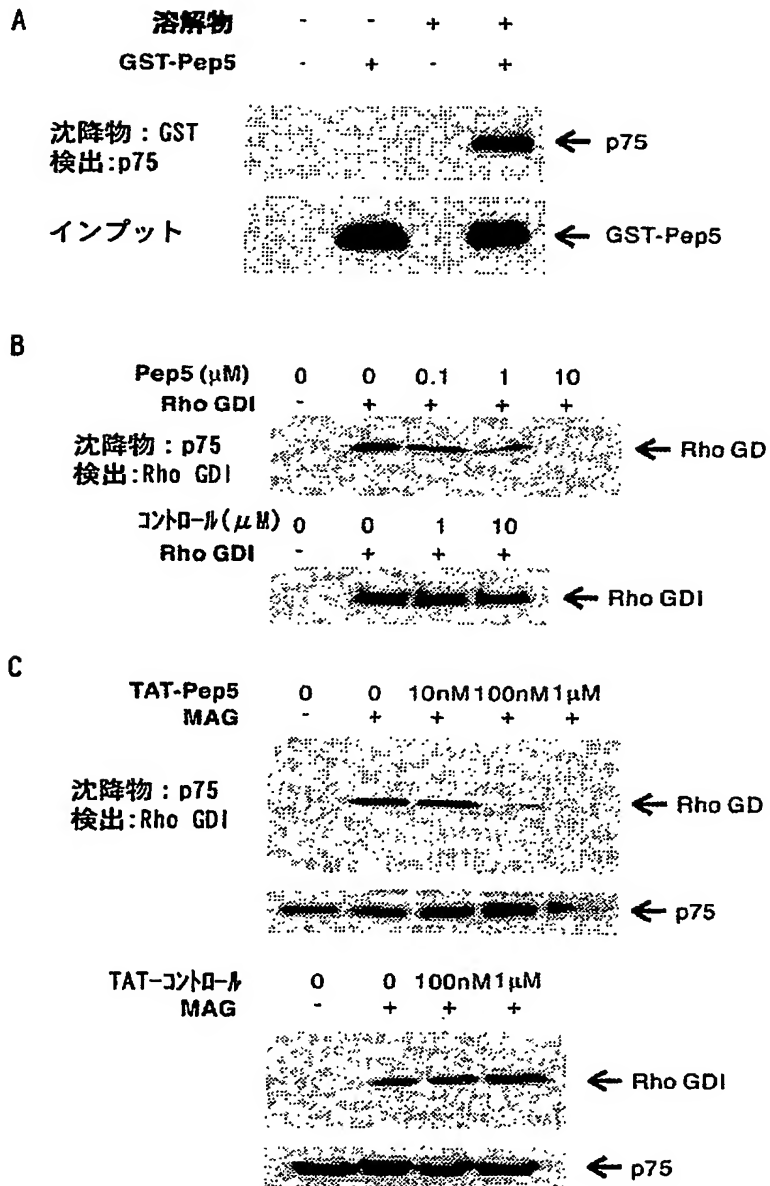
【図8】



【図9】

整理番号

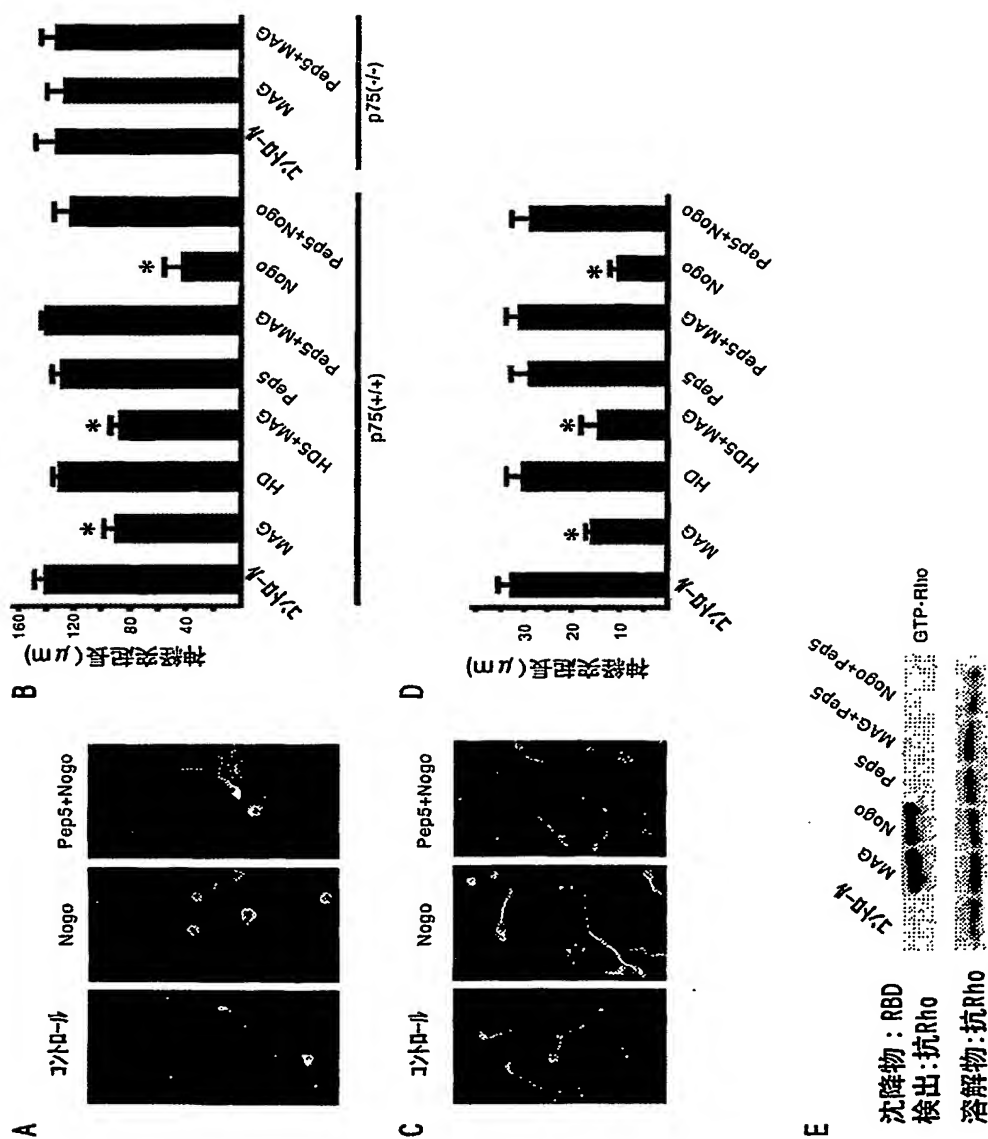
【図9】



【図10】

整理番号

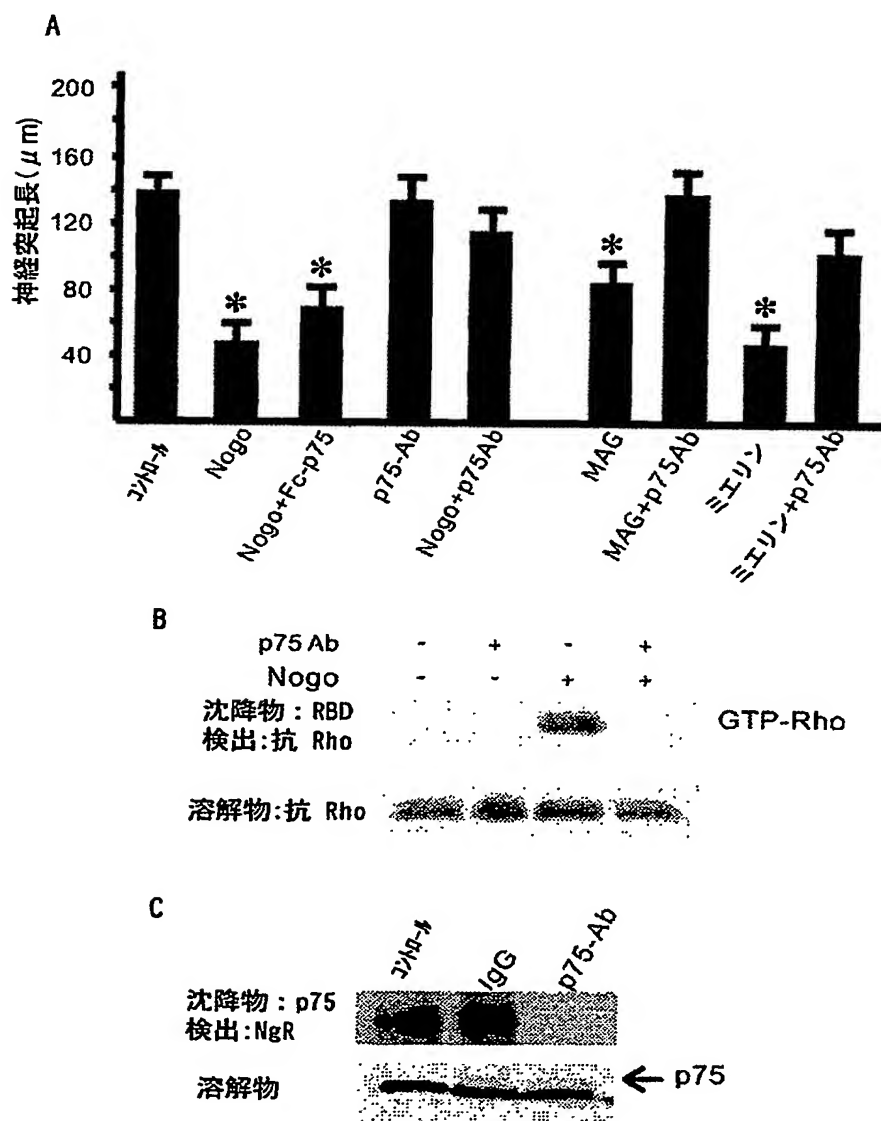
【図10】



【図 11】

整理番号

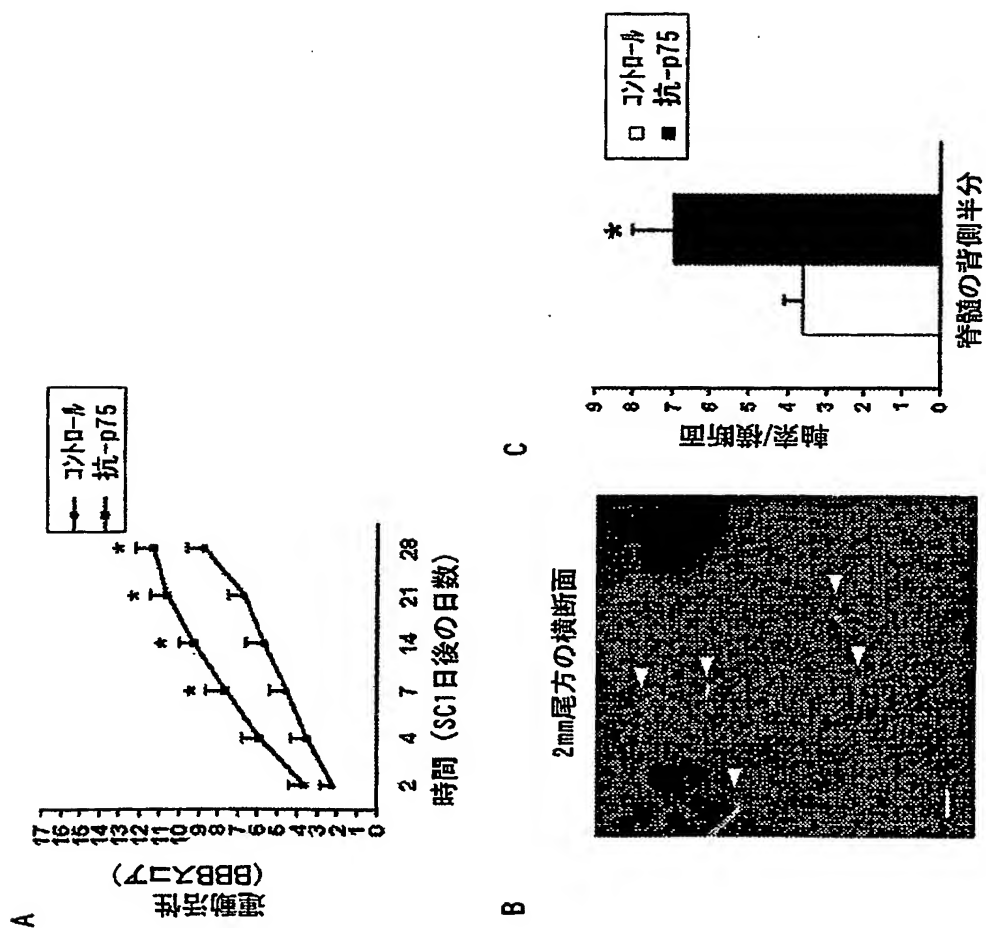
【図 11】



【図 12】

整理番号

【図12】

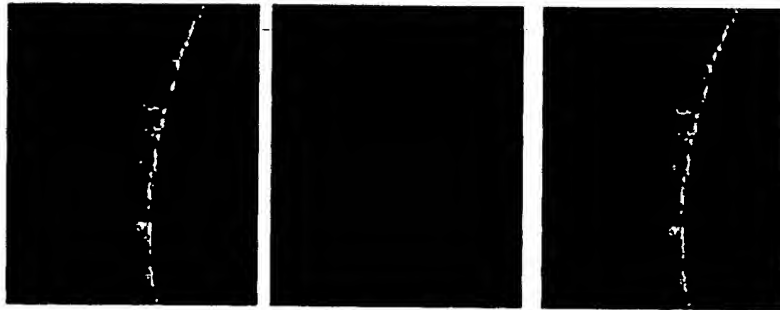


【図 13】

整理番号
【図13】

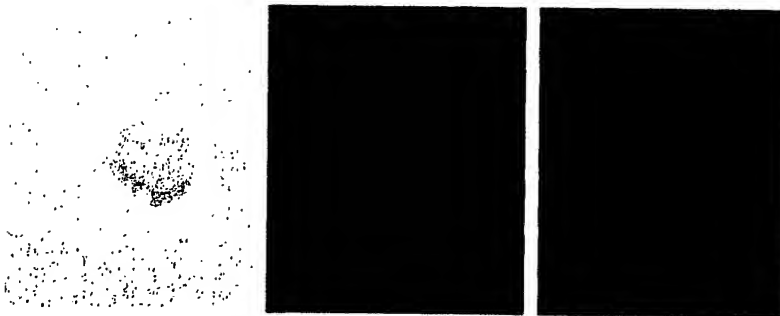
A

β -チューブリン p21^{Cip1/WAF1} 重ね合わせ

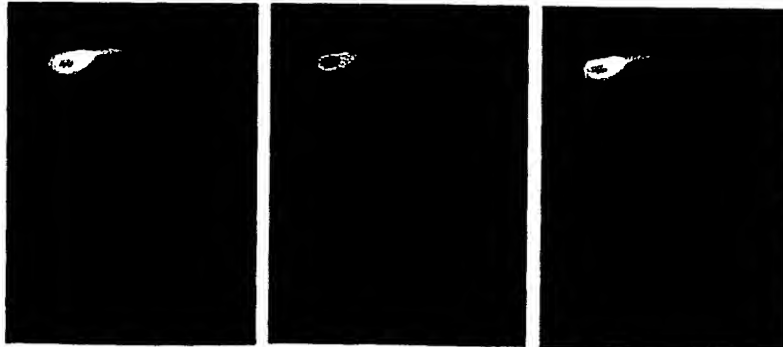


B

p21^{Cip1/WAF1} DAPI

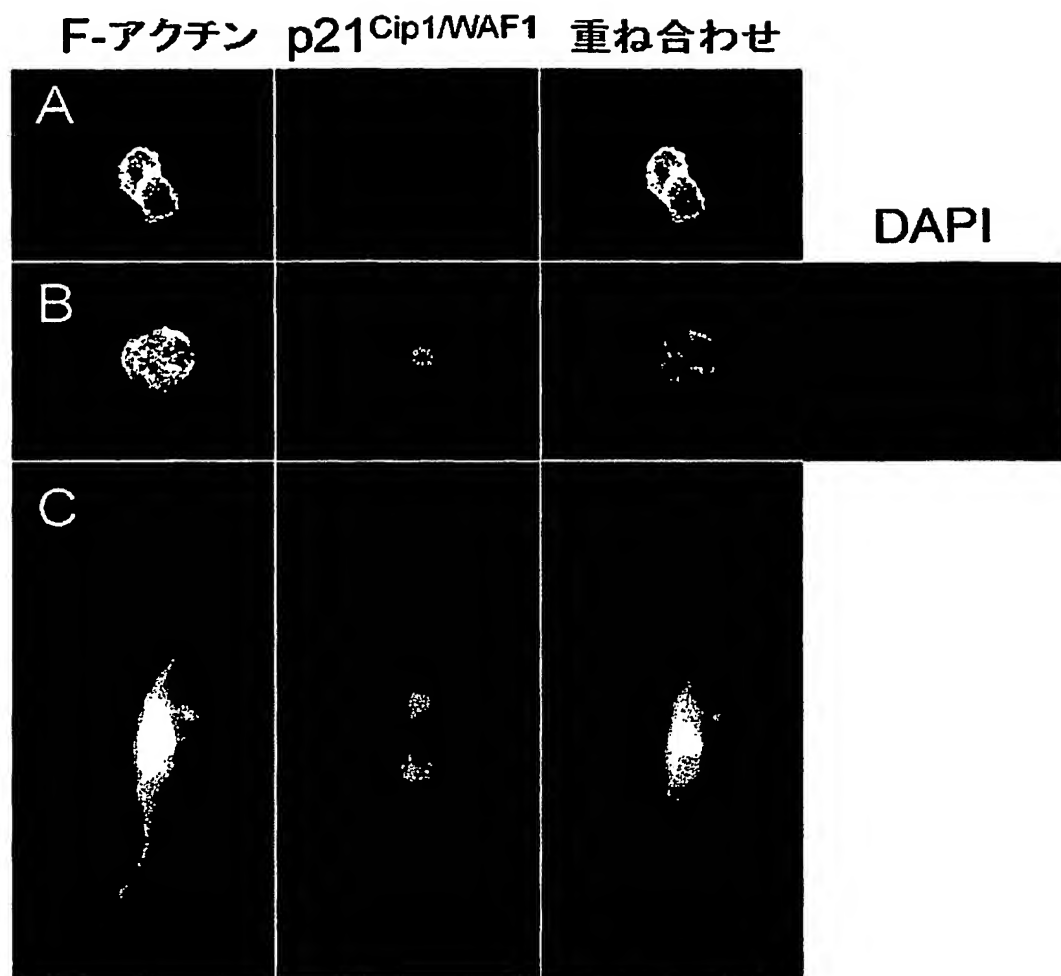


β -チューブリン p21^{Cip1/WAF1} 重ね合わせ



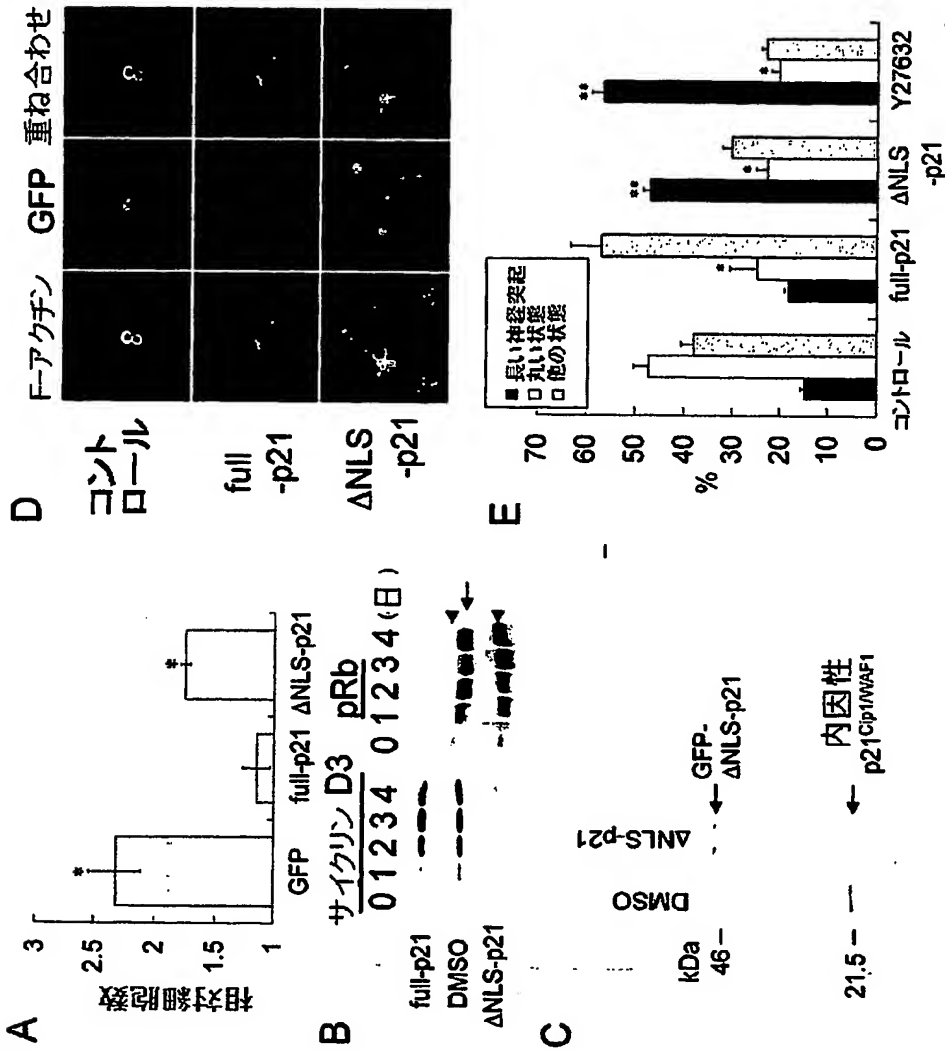
【図 14】

整理番号
【図14】



【図 15】

整理番号
【図 15】

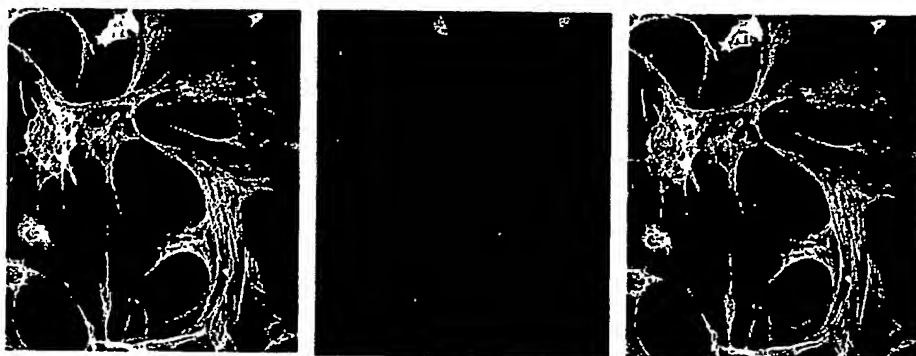


【図16】

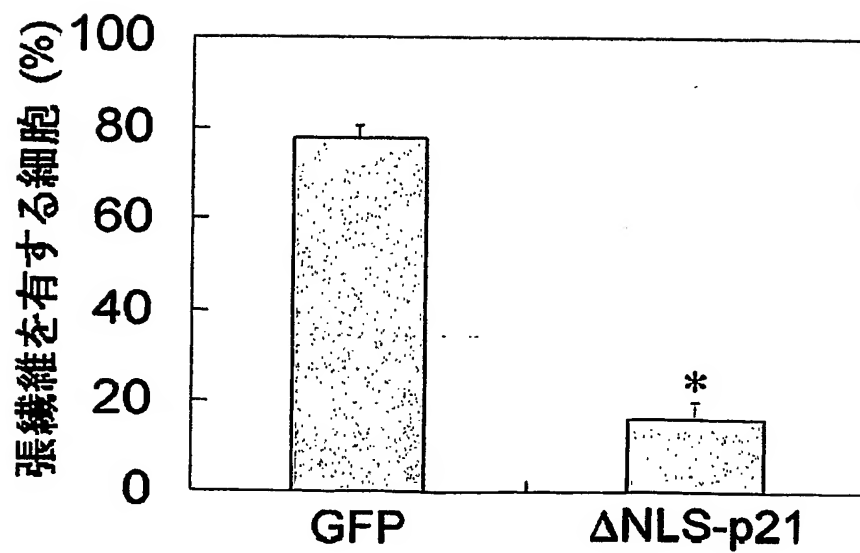
整理番号
【図16】

A

F-アクチン p21^{Cip1/WAF1} 重ね合わせ

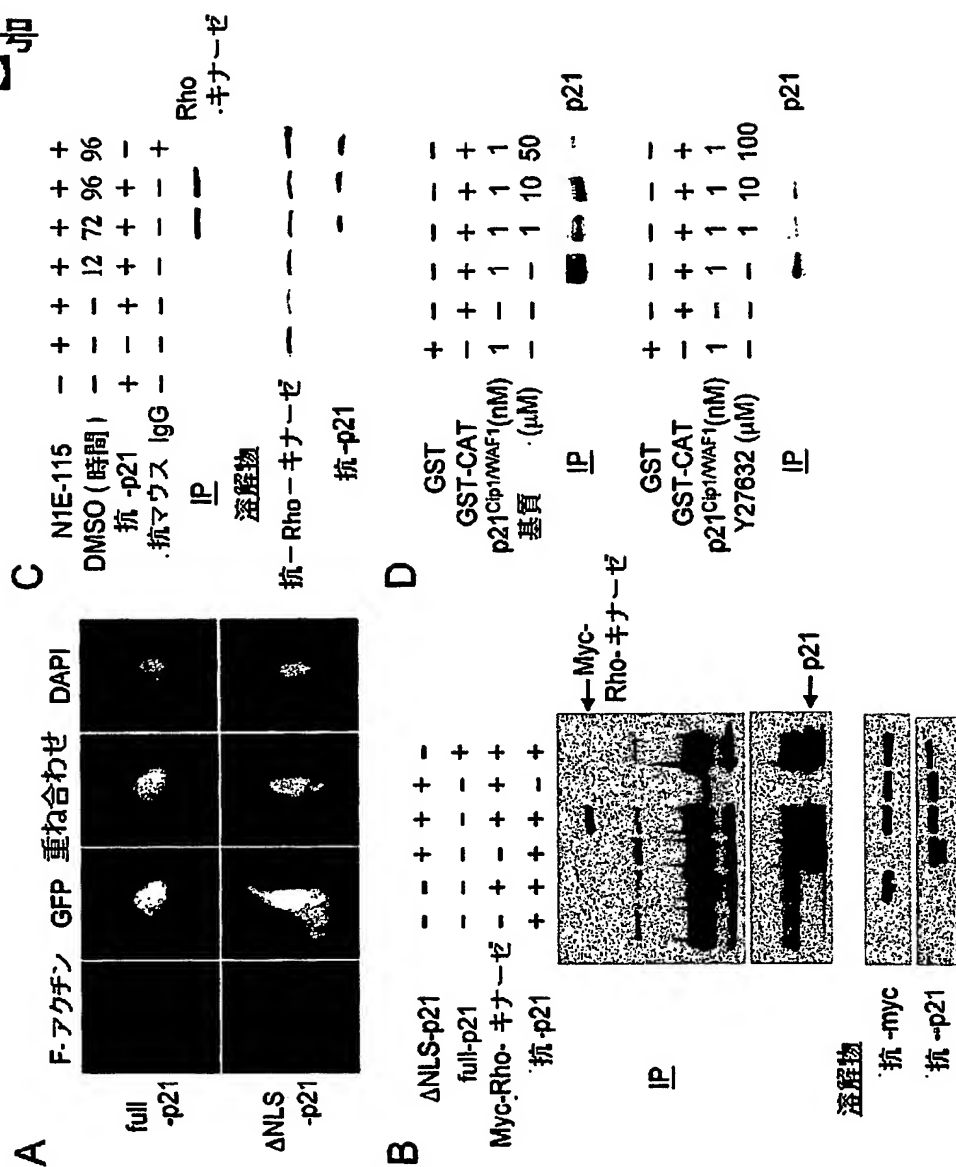


B



【圖 17】

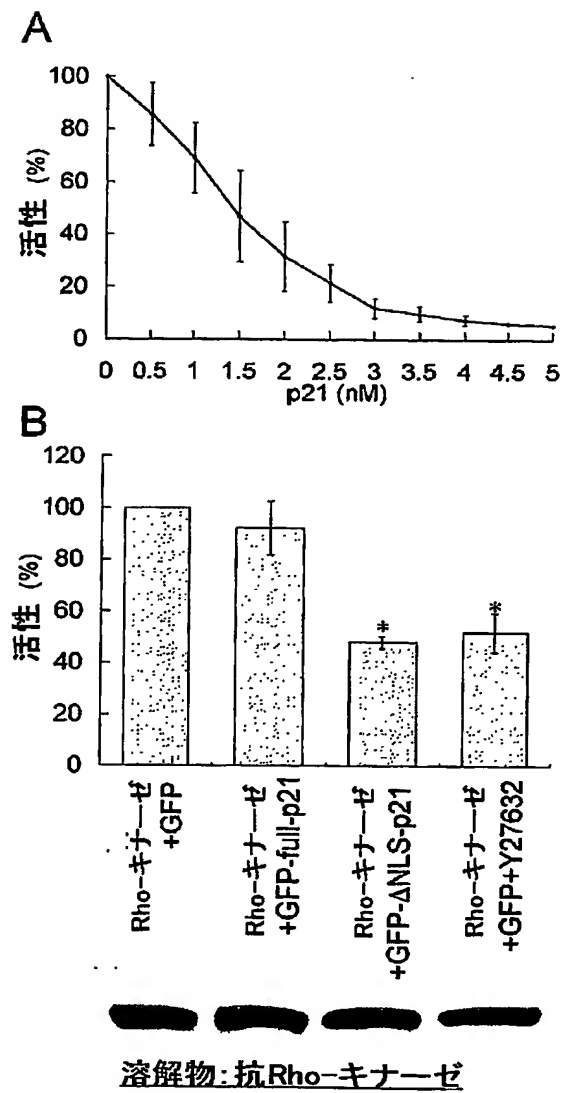
整理番号
【図17】



【図 18】

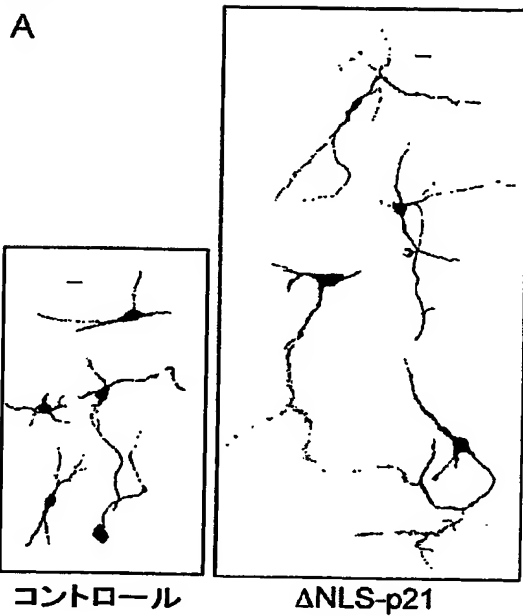
整理番号

【図18】

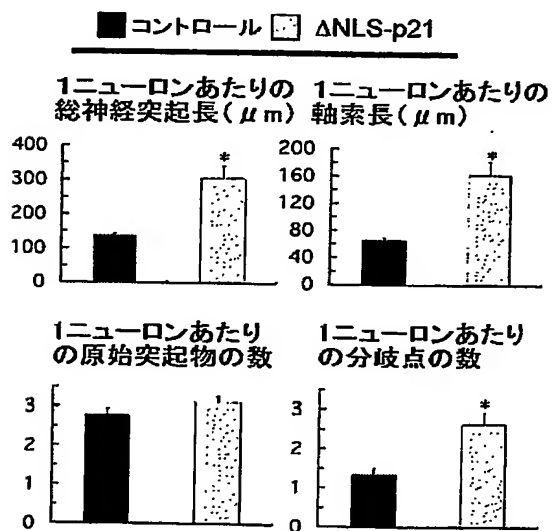


【図19】

整理番号
【図19】

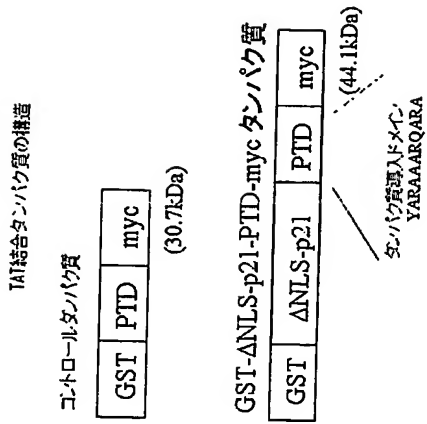


B



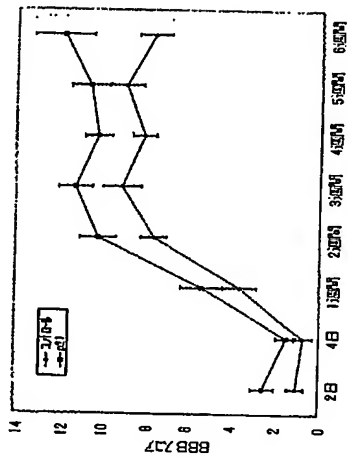
【図 20】

処理番号
[220]



【図 21】

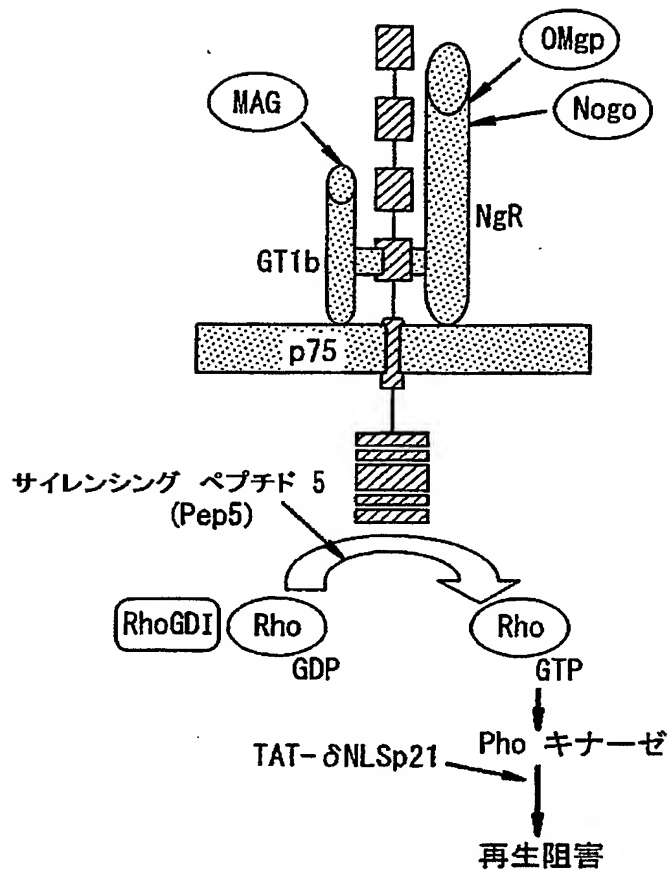
処理番号
[221]



【図 22】

整理番号

【図22】





【書類名】 要約書

【要約】

【課題】

神経の再生およびその神経の再生に基づいて神経学的疾患を処置するための薬学的組成物および方法を提供すること。

【解決手段】

上記課題は、p 75 シグナル伝達経路に關与する P e p 5、p 7 5、R h o、R h o G D I、M A G、G T 1 b、p 2 1、R h o キナーゼなどの組成物またはそれに特異的に相互作用する因子を用いることによって、p 7 5 シグナル伝達経路を遮断または抑制することによって、再生阻害がストップすることにより再生が再開することによって解決された。本発明はまた、P T D ドメインが神経再生薬において有用であることを初めて開示する。

【選択図】 なし

特願 2003-125681

出願人履歴情報

識別番号

[302044546]

1. 変更年月日
[変更理由]

住 所
氏 名

2002年 7月23日

新規登録

東京都港区西新橋1丁目6番14号

株式会社トランスサイエンス

2. 変更年月日
[変更理由]

住 所
氏 名

2003年 7月16日

住所変更

東京都千代田区内幸町1丁目1番1号 インペリアルタワー6
階

株式会社トランスサイエンス

This Page is inserted by IFW Indexing and Scanning
Operations and is not part of the Official Record

BEST AVAILABLE IMAGES

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images include but are not limited to the items checked:

- ☒ BLACK BORDERS
- ☒ IMAGE CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES
- ☒ FADED TEXT OR DRAWING
- ☐ BLURED OR ILLEGIBLE TEXT OR DRAWING
- ☐ SKEWED/SLANTED IMAGES
- ☒ COLORED OR BLACK AND WHITE PHOTOGRAPHS
- ☐ GRAY SCALE DOCUMENTS
- ☐ LINES OR MARKS ON ORIGINAL DOCUMENT
- ☐ REPERENCE(S) OR EXHIBIT(S) SUBMITTED ARE POOR QUALITY
- ☐ OTHER: _____

IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.

**As rescanning documents *will not* correct images
problems checked, please do not report the
problems to the IFW Image Problem Mailbox**